Sz

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **G. Embden**-Frankfurt a. Main, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **U. Friedemann**-Berlin, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Röhmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **F. Tangl**-Budapest, **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **J. Traube**-Charlottenburg, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechsundfünfzigster Band.

Ausgegeben am 1913.



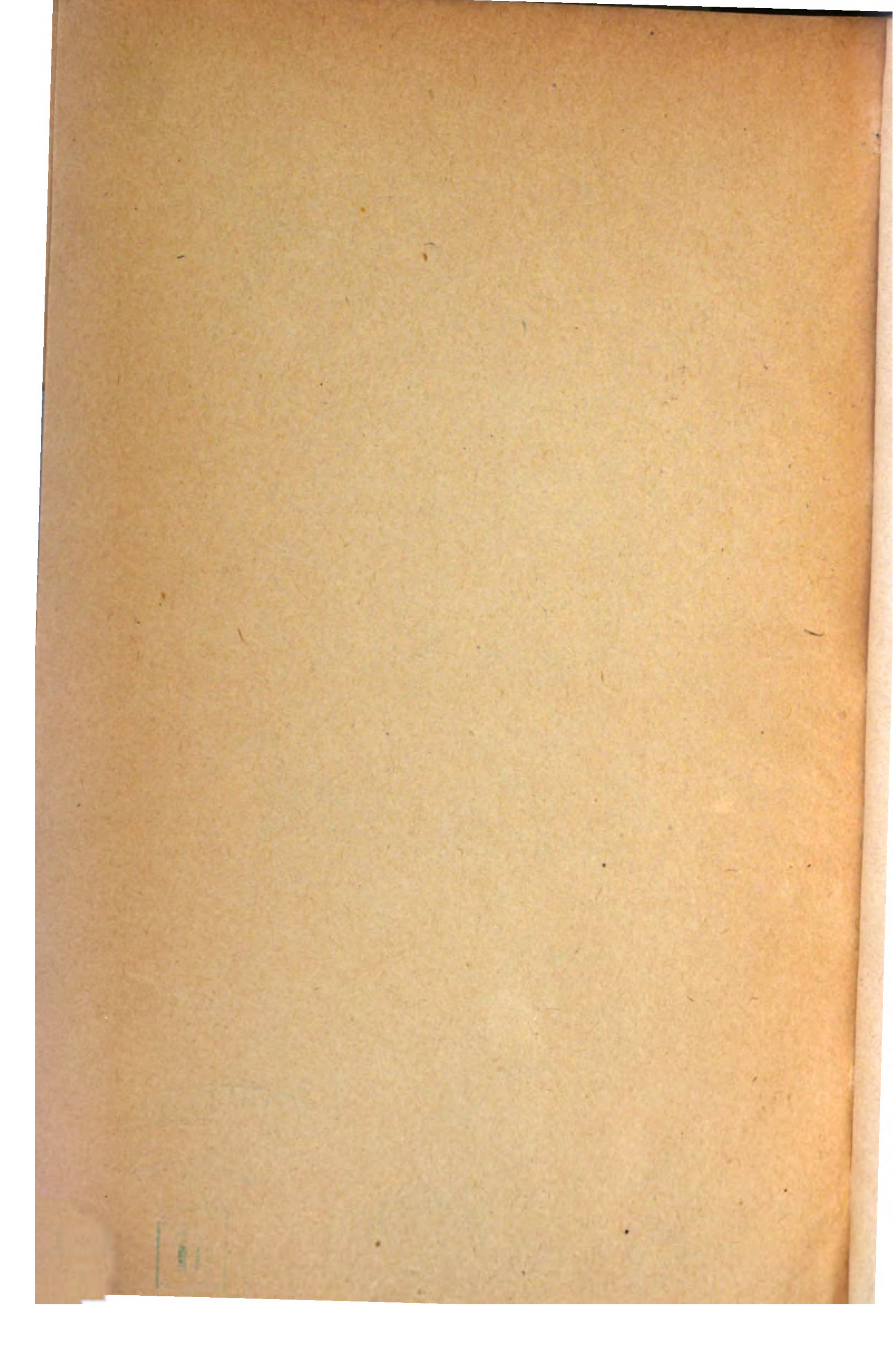
Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.




F.G.KOSTER BOEKBINDER
AMSTERDAM


LEESMUSEUM
AMSTERDAM.


M



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Sechsundfünfzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1913.





Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Foreman, Frederick William. Die Prolinfraktion bei der Hydrolyse des Caseins 1

Spiro, K. Die Fällung von Kolloiden. III. 11

Parnas, J. Über die gesättigte Fettsäure des Kephalins 17

Spät, Wilhelm. Über Komplementwirkung bei Komplementbindungsreaktionen 21

Battelli, F. und **L. Stern.** Untersuchungen über die Atmung zerriebener Insekten 35

Battelli, F. und **L. Stern.** Intensität des respiratorischen Gaswechsels der Insekten 50

Battelli, F. und **L. Stern.** Die Tyrosinoxydase, die Polyphenoloxydase und die Oxydone bei den Insekten 59

Gramenitzky, M. J. Über den Einfluß von Säuren und Alkalien auf das im Stadium der Regeneration befindliche diastatische Ferment 78

Herzfeld, E. Über Indolbildung bei der alkalischen Hydrolyse der Eiweißkörper 82

Kopaczewski, W. Über die Dialysierbarkeit und Eigenschaften der Maltase 95

Baß, R. und **H. Klausner.** Über Veränderungen des Serums nach Chloroform- bzw. Äthereinwirkung 105

Loewy, A. und **S. Rosenberg.** Über die normale Höhe des Blutzuckergehalts bei Kaninchen und Hunden 114

Karczag, L. Über kolloidale Metallchloride und Metallsulfate . . . 117

Wiener, Hugo. Studien über Zelleiweiß mit Hilfe der Formoladdition 122

Bang, Ivar. Über die Zuckerbildung der Froschleber 153

Bang, Ivar. Über die Chlorbestimmung im Blute 158

Bang, Ivar. Antikritik gegen Hattas Kritik der Zuckerbestimmungsmethode von Bang 159

Lichtwitz, L. Bemerkungen zu der Mitteilung von J. Meisenheimer, St. Gambarjan und L. Semper „Anreicherung des Invertasegehalts lebender Hefe". II. 160

Lindner, P. Bemerkungen zu A. J. Kluyvers Mitteilung über die Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen 163

López-Suárez, J. Zur Kenntnis des Magenschleims 167

Masslow, M. Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus. II. 174

Glagolew, P. Über Plasteinbildung. II. 195

Wierzchowski, Zenon. Studien über die Einwirkung von Maltase auf Stärke 209

Stutzer, A. und **S. Goy.** Der Einfluß der Beschattung des Tabaks auf verschiedene Bestandteile der Blätter 220

Henriques, V. Über die Verteilung des Blutes vom linken Herzen zwischen dem Herzen und dem übrigen Organismus 230

Grafe, V. und **V. Vouk.** Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. (Zichorie). III. 249

Herzfeld, E. Über eine quantitative Tryptophanbestimmungsmethode 258

Seite

Dobrowolskaja, N. A. Zur Lehre der Resorptionsvorgänge im Darm 267

Fagiuoli, Antonio. Wirkung des kolloiden Schwefels auf die Autolyse 291

Loeb, Jacques und **Hardolph Wasteneys.** Narkose und Sauerstoffverbrauch 295

Izar, G. und **C. Patanè.** Über die physiologische Wirkung des kolloiden Kohlenstoffs 307

Pincussohn, Ludwig und **Hellmuth Petow.** Untersuchungen über die fermentativen Eigenschaften des Blutes. II. Weitere Untersuchungen über peptolytische Fermente normaler Tiere 319

Erlenmeyer, Ernst. Nachweis und Bestimmung von Blei in organischem Material nebst einigen Bemerkungen über die Trennung von $PbSO_4$ und $CaSO_4$ durch Ammonacetat 330

Petry, Eugen. Zur Methodik der biologischen Wirkung der Röntgenstrahlen 341

Thar, H. Erwiderung zu Seite 259 der Mitteilung von Prof. Dr. E. Salkowski „Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn" 353

Schloßmann, Arthur und **Hans Murschhauser.** Der Stoffwechsel des Säuglings im Hunger 355

Rona, Peter und **Paul György.** Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum 416

Polimanti, Osw. Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische und ihren Aufenthaltsort 439

Bürger, M. und **H. Beumer.** Über die Phosphatide der Erythrocytenstromata bei Hammel und Menschen 446

Krauß, Fritzi. Über die Reaktion zwischen Antikörper und gelöstem Antigen 457

Jacobsen, Aage Th. B. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei normalen, zuckerkranken und graviden Personen 471

Neuberg, Carl. Kleinere Mitteilungen verschiedenen Inhalts 495

Autorenverzeichnis 508

Die Prolinfraktion bei der Hydrolyse des Caseins. Isolierung von Aminobuttersäure.

Von

Frederick William Foreman, B. A., F. I. C.

(Aus dem Institut for the Study of Animal Nutrition, Department of Agriculture, Cambridge Univ.)

(Eingegangen am 25. August 1913.)

Bei der Aufarbeitung der Eiweißspaltungsprodukte findet man auch in den vollkommen alkohollöslichen Prolinfraktionen stets Aminosäuren, die bei Behandlung mit salpetriger Säure einen Gehalt an Aminogruppen zu erkennen geben. Die Natur dieser Aminosäuren ist bisher nicht festgestellt, da eine ausreichende Trennung nicht gelungen ist.

Durch Anwendung meiner[1]) Esterifizierungs- und Estertrennungsmethode auf die Produkte der Salzsäurehydrolyse einer Quantität Casein nach Hammarsten, die 288,4 g reiner Substanz entsprach, erhielt ich eine Prolinfraktion in der üblichen Weise, die nach Trocknung bei 100° 28,05 g wog. Der Gesamtstickstoffgehalt war 12,264%. Bei Anwendung der Methode von van Slyke[2]) zur Bestimmung des Prolins wurden in jenen 28,05 g 22,12% des Gesamtstickstoffs als Aminostickstoff gefunden. Die Fraktion enthielt also 22,0 g Prolin oder 7,63% des angewandten Caseins, während 6,05 g Aminosäuren mit wahrscheinlich offener Kette daneben vorhanden waren. Osborne und Guest[3]) fanden in ähnlicher Weise in ihrer Prolinfraktion aus Casein Aminostickstoff entsprechend 38,7% des Gesamt-N, und van Slyke (l. c.) 30,6%.

---

[1]) Journ. of Agricultural Science 2, Abt. IV.

[2]) Journ. of Biol. Chem. 9, 185 u. 205, 1911.

[3]) Journ. Biol. Chem. 9, 333, 1911.

Aus dieser Prolinfraktion habe ich nun zwei Substanzen erhalten, die bisher nicht unter den Eiweißspaltungsprodukten aufgefunden worden sind: die erste ist unzweifelhaft Aminobuttersäure, die zweite gehört wahrscheinlich der aromatischen Reihe an.

Die Reindarstellung einer stickstoffhaltigen Verbindung mit einer Aminogruppe gelang erst auf Grund der Beobachtung, daß ein beigemischter nichtkrystallisierender Körper der getrockneten Prolinfraktion durch Chloroform entzogen werden konnte.

23,7 g Substanz, die nach Extraktion der ursprünglichen 28,05 g trockenen Prolins übrig blieben, wurden in folgende vier Fraktionen geteilt:

Fraktion A. Eine Chloroformlösung, erhalten durch Extraktion der gründlich getrockneten und mit heißem Chloroform ausgezogenen Aminosäuren.

Fraktion B. 8,69 g trockene Substanz, die in folgender Weise erhalten war: Alle Spuren Chloroform wurden bei 100° aus dem in Chloroform unlöslichen Rückstand entfernt; dieser wurde alsdann mit kaltem absoluten Alkohol sukzessive in 4 Portionen extrahiert, indem im ganzen 400 ccm zu der 2 Tage währenden Extraktion benutzt wurden. Aus der eingeengten Lösung krystallisierten 2,2 g Substanz, wahrscheinlich Prolin, aus; das Filtrat lieferte beim Eindampfen zur Trockne 8,69 g feste Substanz.

Fraktion C. 1,55 g Substanz, die ungelöst blieben, wenn der in kaltem Alkohol unlösliche Rückstand mit siedendem Alkohol behandelt wurde.

Fraktion D. 3,75 g einer festen Verbindung, die beim Verdampfen des Filtrats von Fraktion C übrig blieb.

Die Fraktion A.

Nach Entfernung des Chloroforms wog dieser Auszug 5,87 g. Beim Aufnehmen in wenig kaltem Chloroform hinterblieben 1,54 g Substanz, die als l-Prolin anzusprechen sein dürften. Dasselbe schmolz nach Umkrystallisation aus Alkohol bei 225 bis 226°. Die Analyse ergab einen Gehalt von 51,09% C und 8,18% H.

0,1011 g Substanz lieferten 0,2 ccm Aminostickstoff nach van Slyke.

Spezifische Drehung in wässeriger Lösung: $[\alpha]_D^{20} = -72,7^0$.

Die gefärbte sirupöse Substanz wog 4,3 g und krystallisierte aus keinem Lösungsmittel. Um über ihre Zusammensetzung ein ungefähres Urteil zu gewinnen, wurde ein Teil der Chloroformlösung mit Äther gefällt. Die so gewonnene Substanz enthielt 55,11 % C, 7,93 % H, 13,13 % N, 0,22 % Amino-N.

Die Fraktion D.

Diese 3,75 g Substanz enthielten 3,55 % Amino-N. Dieselben wurden gelegentlich einige Tage lang mit 100 ccm kaltem absoluten Alkohol geschüttelt; dabei blieb eine kleine Menge ungelöst und wurde abfiltriert. Nach dem Trocknen war ihr Gewicht 0,315 g. Mit Ausnahme eines leicht gefärbten Saumes, der beim Verdunsten der Alkoholspuren hochkroch, war die Substanz weiß und schmolz unter Entfärbung bei 238°. Die spezifische Drehung wurde in wässeriger Lösung zu — 6,4° befunden.

Mittels der Methode von **van Slyke** wurde in der zur Drehungsbestimmung benutzten Flüssigkeit ein Gehalt von 12,40 % Amino-N in der Substanz nachgewiesen. Da die optisch-aktive Lösung leicht gefärbt war, also vermutlich noch Beimengungen enthielt, so wurde die Lösung in der Wärme mit Tierkohle entfärbt und zur Trocknung verdampft. Der Schmelzpunkt war jetzt auf 241 bis 242° gestiegen, wobei bei 220° ein leichtes Zusammensintern bemerkbar war. Die mit Tierkohle gereinigte Substanz gab folgende Analysenwerte:

0,1165 Substanz: 0,1975 CO_2, 0,0902 H_2O.
0,0823 „ 9,6 ccm N (17°, 759 mm).

Aminobuttersäure: Ber.: 46,60 C, 8,73 H, 13,59 N.
Gef.: 46,24 C, 8,603 H, 13,59 N.

Leider wurde verabsäumt, die spezifische Drehung für die mit Tierkohle gereinigte Substanz zu bestimmen. Substanzmangel verhinderte auch eine Wiederholung der Amino-N-Bestimmung. Die Differenz zwischen 13,59 % Gesamt-N in der gereinigten Substanz und 12,4 % Amino-N in der nicht entfärbten Verbindung beträgt 1,19 %. Wenn man annimmt, daß dieser N in Form von l-Prolin mit einer Drehung von — 77,4° vorgelegen hat, so berechnet sich für die Amino-

buttersäure ein Drehungsvermögen, das praktisch gleich Null ist. Aminobuttersäure enthält kein asymmetrisches Kohlenstoffatom.

Die alkoholische Lösung, die den in Alkohol löslichen Teil der 3,75 g betragenden Fraktion enthielt, und aus der sich die 0,315 g Aminobuttersäure ausgeschieden hatten, wurde unter vermindertem Druck auf ein kleines Volumen gebracht; beim Stehen schied sich eine kleine Menge Krystalle vom Schmelzpunkt 215 bis 216° ab. Diese gaben ein Kupfersalz, das sich, wie die entsprechende Verbindung des l-Prolins, vollständig in kaltem Alkohol löste. Der Alkohol wurde aus der Mutterlauge entfernt, und aus dieser das Kupfersalz bereitet. Nach vollständiger Trocknung wurde es so lange mit kaltem Alkohol verrieben und extrahiert, bis ein völlig farbloses Filtrat abfloß. Der unlösliche Teil wog 0,6 g und wurde dann noch etliche Male mit heißem Alkohol ausgezogen, wobei dauernd ein leicht gefärbtes Filtrat erhalten wurde als Zeichen für eine geringe Löslichkeit des Kupfersalzes in heißem Alkohol. Die in heißem Alkohol unlösliche Quantität belief sich auf 0,285 g. Nach dem Trocknen im Dampftrockenschrank während $1^1/_2$ Stunden bei 110° blieb das Gewicht genau das gleiche. Die Verbindung enthielt deshalb kein Krystallwasser. 0,1300 Substanz lieferten 0,0387 Kupferoxyd, entsprechend 23,76 % Kupfer; aminobuttersaures Kupfer enthält 23,72 % Kupfer.

Die kleine Menge Kupfersalz, die übrig blieb, wurde vom Kupfer befreit, und die freie Aminosäure krystallisierte aus Wasser in flachen Nadeln, die in Alkohol praktisch unlöslich waren und unterm Mikroskop sternförmige Gruppen bildeten.

Dies Resultat führt zu der Annahme, daß aller in Fraktion D vorhandene Aminostickstoff in Form von Aminobuttersäure zugegen war.

Die Fraktion C.

Die Substanz, deren Menge 1,55 g betrug, schmolz unter Verfärbung bei 241°; sie enthielt 44,77 % C, 8,17 % H und 11,02 % Amino-N. Beim Veraschen von 0,1239 g Substanz hinterblieben 0,0022 g gelblich-weiße Asche.

Die spezifische Drehung wurde in wässeriger Lösung bestimmt; da jedoch die Lösung gefärbt war, so kann der er-

mittelte Wert von $[\alpha]_D^{20} = -10^0$ nur als ein angenäherter gelten.

Um möglichst vollständig anhaftende Spuren von Prolin zu entfernen, wurde der Rest der Substanz kurze Zeit mit je 3 Portionen absoluten Alkohols ausgekocht. Beim Abkühlen schieden diese Extrakte Krystalle aus, die genau der aus Fraktion D erhaltenen Form von Aminobuttersäure entsprachen, d. h. sternförmig angeordnete kleine Nadeln bildeten. Die Extrakte wurden deshalb vereinigt, auf 20 ccm eingeengt und kaltgestellt. Die ausgeschiedene Substanz wurde abfiltriert und mehrmals mit warmem Alkohol ausgewaschen. Vier weitere Fraktionen wurden noch aus der Muttersubstanz durch Extraktion mit siedendem Alkohol in genau der gleichen Weise erhalten. Sie alle sinterten bei 220° und schmolzen unter Zersetzung bei 241 bis 242°. Auch die Krystallform war überall die gleiche.

Das Gesamtgewicht dieser drei verschiedenen Fraktionen von gleichem Schmelzpunkt und gleichem Aussehen belief sich auf 0,593 g. Das spezifische Drehungsvermögen betrug — 3,7°.

Allerdings war die Lösung noch ein wenig gefärbt.

Da die Muttersubstanz eine Drehung von — 10° aufwies, so war durch die beschriebene Behandlung linksdrehende Substanz entfernt worden. Der Umstand, daß die Lösung noch eine Spur Färbung aufwies, würde dafür sprechen, daß eine wiederholte Behandlung mit heißem Alkohol das Drehungsvermögen noch weiter herabdrücken könnte. Freilich ist dieses Ziel noch nicht erreicht.

Die leichte Färbung der Lösung wurde durch Erwärmen mit Tierkohle beseitigt und die Substanz bis zur Konstanz des Gewichts getrocknet.

0,1279 Substanz gaben 0,2140 CO_2 und 0,0975 H_2O.

Bei der Verbrennung wurden wiederum 0,0021 g gelbliche Asche gefunden.

0,1110 g Substanz lieferten 12,7 ccm N (19°, 762 mm) nach Dumas.

0,0897 g gaben 20,5 ccm N (19°, 762 mm) nach van Slykes Methode.

Aminobuttersäure:

Ber.: 46,60 C, 8,73 H, 13,59 N und 13,59% Amino-N.

Gef.: 45,64 C, 8,57 H, 13,28 N und 13,20% Amino-N.

Man bemerkt, daß die erhaltenen Zahlen sämtlich ein wenig niedriger sind als die berechneten, aber diese Differenz kommt stets im gleichen Sinne zum Ausdruck und deutet auf eine anorganische Beimengung, die ja auch in der erwähnten gelblichen Asche vorliegt. Für das Vorhandensein dieser Asche kann ich nur eine Herkunft aus der Tierkohle annehmen.

Die übrigbleibende Substanz wurde in das Kupfersalz verwandelt.

0,1476 Substanz ergaben 0,0434 g Kupferoxyd = 23,4 % Kupfer. Das Kupfersalz der Aminobuttersäure enthält 23,72 % Kupfer.

Die isolierte Aminobuttersäure zeigt die Neigung, bei etwas niedrigerer Temperatur als ihr Zersetzungspunkt zu sublimieren, wahrscheinlich gegen 220°, wo ein leichtes Sintern sich bemerkbar macht. In Abwesenheit von Prolin ist sie nur spärlich in heißem Alkohol löslich. Der niedrige Schmelzpunkt deutet auf die Iso-Verbindung, da Aminoisobuttersäure niedriger schmilzt als die normale Verbindung. Andererseits enthält Aminoisobuttersäure kein asymmetrisches Kohlenstoffatom, während die spezifische Drehung zu — 3,7° gefunden ist. Allerdings ist diese Drehung vor Reinigung der Substanz mit Tierkohle ermittelt.

Die Fraktion B.

Die Substanz dieses Anteils im Gewichte von 8,69 g wurde analysiert.

Spezifische Drehung in wässeriger Lösung — 29,2°.

3 % Amino-N.

12,66 % Gesamt-N, nach Dumas.

Da Prolin 12,17 % N enthält, so ist es klar, daß eine Substanz mit höherem N-Gehalt beigemischt ist. Durch Rechnung findet man, daß die 3 % Amino-N in 1,8 g von den gesamten 8,69 g stecken, und daß diese 1,8 g 14,5 % N enthalten würden. Die niedrige spezifische Drehung (von — 29,2°) weist auf einen beträchtlichen Gehalt an racemischem Prolin.

Versuche mit der Substanz ergaben, daß sie zwar im kalten Alkohol sich völlig auflöst, daß aber nach Einengung der alkoholischen Lösung auf ein kleines Volumen ein Zusatz von kaltem Alkohol einen flockigen, weißen Niederschlag erzeugt, der sich rasch absetzt. Beim Stehen an der Luft oder

bei Zugabe von Äther zerfließt die Substanz fast augenblicklich zu einem dünnen Sirup, der beim Trocknen im Dampfschrank bald klar und glasig wird. Die Substanz war sehr hygroskopisch, wollte nicht krystallisieren und ging nicht in Amylalkohol über. Der aus den 8,69 g erhaltene Niederschlag wog 7,2 g und wurde nunmehr bei ungefähr 60° mit frisch destilliertem Amylalkohol ausgezogen und filtriert. Der ungelöste Anteil wurde abermals mit frischem Amylalkohol bei 60° extrahiert und ergab eine zweite lösliche Fraktion. Zum Schluß wurde die nunmehr noch ungelöst gebliebene Substanz mit Amylalkohol ausgekocht, wobei ein löslicher Anteil und ein Rückstand gewonnen wurden. Diese unlösliche Substanz wurde abermals mit Amylalkohol gekocht und damit ausgewaschen. Jetzt wurde sie 3 mal mit Alkohol aufgekocht, um anhaftende Spuren Amylalkohol und Prolin zu entfernen. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, die schwache Färbung mit Tierkohle beseitigt und zur Trockene gedampft. Dabei hinterblieb ein durchsichtiger Sirup, der vollkommen der früher beschriebenen Fällung glich, wie sie Alkohol in der konzentrierten alkoholischen Lösung hervorbringt. Nach Trocknung im Dampfschrank bis zu konstantem Gewicht und nach Abkühlung wurde er hart und glasähnlich. Die erhaltene Menge betrug 0,6 g. Die Substanz reagierte auf Lackmus sauer und verbreitete beim Erhitzen einen piperidinähnlichen Geruch. Der Äthylalkoholextrakt, den man vor Aufnehmen des Rückstandes in Wasser erhalten hatte, ergab weitere 0,14 g beim Einengen und weiterer Verarbeitung; insgesamt wurden also 0,74 g erhalten.

Die 3 amylalkoholischen Auszüge lieferten nach vorsichtiger Einengung im Vakuum und nach dem Verweilen über konzentrierter Schwefelsäure Krystalle, die vorwiegend aus racemischem Prolin bestanden.

Von den 0,6 g jener glasigen Substanz, die in siedendem Äthyl- und Amylalkohol unlöslich war, wurden Zusammensetzung und spezifische Drehung bestimmt:

$$[\alpha]_D^{20} = -12,2^{\circ}.$$

0,1546 g bei 100 g zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz lieferten 0,2387 g CO_2 und 0,1030 g H_2O. Bei der Ver-

brennung wurden ferner 0,0021 g leichtgefärbter Asche gefunden.

0,1166 g Substanz verbrauchten nach Kjeldahl 12,35 ccm $^{n}/_{10}$-Säure.

0,0907 g gaben nach van Slyke 11,8 ccm N (20°, 762 mm).

Aus diesen Daten berechnet sich folgende Zusammensetzung:

C = 42,69, H = 7,50, N = 14,83, Amino-N = 7,46 %.

Der Rest der Verbindung wurde alsdann ins Kupfersalz übergeführt, das in Alkohol ganz unlöslich war und in Wasser weit löslicher war als das andere alkoholunlösliche Kupfersalz der Prolinfraktion. Es krystallisierte aus sehr wenig Wasser nach etlichen Stunden in der Form von scheinbar rechtwinkligen Platten. Der Rückstand, der beim Verdampfen der wässerigen Lösung zur Trockne hinterblieb, zeigte nach abermaliger Trocknung bei 100° das charakteristische Aussehen von Kobaltglas, um beim Abkühlen plötzlich zu entglasen. Bei 3stündigem Erhitzen auf 110° blieb die Verbindung tiefblau, ohne dabei Krystallwasser zu verlieren. Bei weiterem Erhitzen für $^{1}/_{2}$ Stunde auf 135 bis 140° fand gleichfalls kein Gewichtsverlust statt. Beim Verbrennen entwickelte das Kupfersalz einen pyridinähnlichen Geruch, und die Dämpfe erzeugten in einem Tropfen salzsäurehaltigen Bromwassers eine milchige Trübung.

0,1400 g Substanz lieferten 0,0421 g Kupferoxyd, was einem Gehalt von 24,01 % Kupfer entspricht.

Wie ersichtlich, enthält die Substanz fast genau die Hälfte ihres Gesamt-N in Form von Amino-N. Dieser Umstand spricht zusammen mit dem Drehungsvermögen, dem Aussehen und der Säurenatur der Substanz, ferner mit dem charakteristischen Verhalten ihres Kupfersalzes dafür, daß ein chemisches Individuum vorliegt. Aus den Analysenzahlen würde sich die empirische Zusammensetzung $C_7H_{14}N_2O_4$ berechnen. Der beim Erhitzen entwickelte Geruch zeigt einen Piperidinkern an. Auch aus der niedriger siedenden Esterfraktion, die ich bei der gleichen Caseinhydrolyse gewann, konnte ich kleine Mengen einer Base mit Piperidingeruch isolieren. Sie reagierte stark alkalisch auf Lackmus, bildete mit Salzsäure Nebel, lieferte einen Niederschlag mit Mercurichlorid, erhitzte sich stark bei Neutralisation mit Salzsäure und gab recht deutlich ein Chloroplatinat, das in Alkohol löslich war und bei 185° schmolz.

Die Analyse dieser Platinverbindung gab Zahlen, welche die Ansicht stützen, daß diese Base ein Derivat der durchsichtigen glasigen Substanz darstellt. Hierüber sind weitere Untersuchungen im Gange.

Berücksichtigt man die wiederholt entnommenen kleinen Proben, so ergibt sich folgendes Zahlenverhältnis für die ursprünglichen 28,05 g Prolinextrakt, die selbst 288,4 g Casein entsprachen:

Aminobuttersäure	2,74 g
Glasähnliche Substanz, deren Stickstoff zur Hälfte als Amino-N vorlag	1,05 „
Gefärbte sirupöse Substanz, chloroformlöslich und ohne Aminogruppen etwa	5,00 „

Meine Ergebnisse stehen nicht mit der Ansicht von van Slyke[1]) im Einklange, daß der Unterschied zwischen Gesamt-N und Amino-N der Prolinfraktion ein quantitatives Maß für Prolin darstellt; denn sowohl der gefärbte als der glasige Körper enthalten N, der nicht in Aminogruppen vorliegt, und besitzen eine vom Prolin weit abweichende Zusammensetzung.

Abtrennung von l-Prolin in Form seines Kupfersalzes.

Wenn man aus der getrockneten Prolinfraktion die gefärbte Beimengung mit Chloroform ausgezogen hat, so nimmt man die hinterbleibenden Aminosäuren in absolutem Alkohol auf. Läßt man diese alkoholische Lösung gehörig mit frisch gefälltem und zuvor bei 100° getrocknetem sowie gepulvertem Kupferhydroxyd sieden, so findet man, daß praktisch lediglich das Kupfersalz von l-Prolin in Lösung bleibt. Die ungelösten Kupferverbindungen wurden abfiltriert und mit absolutem Alkohol so lange gewaschen, bis die Waschflüssigkeit farblos abfloß, und nunmehr mit Wasser ausgekocht. Dann gingen die alkoholunlöslichen Kupfersalze der Prolinfraktion in die wässerige Lösung über; es befand sich jedoch kein alkohollöslicher Bestandteil darunter. Die alkoholische Lösung wurde alsdann zur Trockne verdampft und nur eine Spur blieb beim Anrühren mit kaltem absolutem Alkohol ungelöst. Die Lösung wurde abermals verdampft und im Rückstand der Amino-N

[1]) l. c.

nach van Slyke ermittelt. 0,14 g Substanz lieferten dabei nur 1,3 ccm Amino-N. Man kann also nahezu reines l-Prolinkupfer in der beschriebenen Weise erhalten. Ein solches Produkt kann man nicht gewinnen, wenn man das Gemisch der wie gewöhnlich in wässeriger Lösung bereiteten Kupfersalze der Prolinfraktion mit Alkohol extrahiert.

Zusammenfassung.

Durch Entfernung einer chloroformlöslichen, nicht krystallisierenden und gefärbten Substanz aus der getrockneten Prolinfraktion gelingt eine weitere Aufteilung der hierin vorliegenden Aminosäuren.

Aminobuttersäure, die bisher nicht als ein Produkt der Säurespaltung von Eiweißkörpern bekannt war, ist in der Prolinfraktion aus Casein aufgefunden worden.

Ferner wurde eine saure Substanz mit vermutlich einem Piperidinring, die ein charakteristisches Kupfersalz gibt und die Hälfte ihres Gesamt-N als Amino-N enthält, abgeschieden und daneben auch eine Base, die vermutlich von diesem Körper abstammt.

In der Prolinfraktion finden sich noch andere Verbindungen, die N nicht in Form von Aminogruppen enthalten; die Prolinbestimmung nach van Slyke schließt diese Körper mit ein.

Nahezu reines l-Prolinkupfer kann man darstellen, wenn man die alkoholische Lösung der Aminosäuren, wie sie in der getrockneten Prolinfraktion vorliegen, mit frisch gefälltem, getrocknetem und gepulvertem Kupferhydroxyd kochen läßt.

Die Fällung von Kolloiden.

III. Mitteilung.

Von

K. Spiro.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. Els.)

(Eingegangen am 20. August 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Da bei den für die Salzfällung der Kolloide angewandten Konzentrationen der „Neutralsalze" deren Dissoziation unvollständig ist, so müssen diese Lösungen in bezug auf Reaktionsverschiebung sich ähnlich verhalten wie Lösungen von Salzen mit einem unvollständig dissoziierbaren Ion, d. h. durch ihren Vorrat an potentiellen Ionen als „Puffer" wirken können. In einer vorhergehenden Arbeit habe ich mich bemüht, dies durch Bestimmung des Wasserstoffionenexponenten — p_H — für die in Betracht kommenden Salz-Eiweißgemische festzustellen. Es ergab sich in der Tat, daß bei Anwendung isomolarer Lösungen die Werte für die Mg- und NH_4-Salze von denen der K-, Na- und Li-Salze abweichen, und daß ebenso die Acetat-Ionen von den anderen Anionen sich unterschieden.

Es erschien jedoch wünschenswert, dies noch eingehender zu verfolgen, da vielleicht auch auf diesem Gebiete sich physikalische Gesetzmäßigkeiten zeigen ließen, die sich den früher für die lyotrope Reihe gezeigten anreihen könnten. Dank der durch die ausgezeichneten Arbeiten von Friedenthal, Michaelis und Sörensen geschaffenen Methodik ließen sich für Reihenversuche relativ leicht Zahlen bestimmen, deren absolute Genauigkeit unerörtert bleiben soll, die aber untereinander jedenfalls für den beabsichtigten Zweck vergleichbar sind.

Zur Anwendung kam wieder eine 1,44 %ige Eierklarlösung, deren p_H colorimetrisch gleich 7,73, elektrometrisch gleich 7,69

gefunden war, und die ungefähr molaren Lösungen der nachstehend angeführten Salze, deren p_H besonders bestimmt wurde.

Tabelle I.

I. Kaliumsalze.

	p_H von 5 Salz $+ 5 H_2O$	p_H von Salzlösung zu Eiweißlösung								
		1:9	2:8	3:7	4:6	5:5	6:4	7:3	8:2	9:1
KCNS . . .	4,89	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73
KJ	6,90	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73
KBr	4,89	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56	7,38	6,89
KNO_3 . . .	4,96	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56
KCl	6,12	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38
K_2SO_4 . . .	5,58	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56	7,16
KF	5,29	7,17	6,47	6,07	5,91	5,59	5,29	5,29	5,29	5,29
K-Acetat . .	5,75	6,23	6,17	6,17	5,90	5,75	5,75	5,75	5,75	5,75

Die elektrometrische Bestimmung von Mischungen aus Eiweißlösung mit gleichen Teilen der Salzlösungen ergab, mit Ausschluß von Acetat und Fluorid, im Mittel den Wert der Eiweißlösung, für die Mischung von Eiweiß mit KF aber den Wert 5,86. Die KF-Lösungen sind jedesmal frisch zu bereiten, da ihr p_H-Wert beim Stehen in Glasgefäßen ansteigt. Die stark saure Reaktion des Kaliumacetats (Kal. acet. puriss. Merck) dürfte auf beigemengte Essigsäure zurückzuführen sein, die indessen für die Deutung der Versuche ohne Belang ist.

II. Natriumsalze.

	p_H von 5 Salz $+ 5 H_2O$	p_H von Salzlösung zu Eiweißlösung								
		1:9	2:8	3:7	4:6	5:5	6:4	7:3	8:2	9:1
NaCNS . .	9,18	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73
NaJ	5,43	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73
NaBr . . .	5,43	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38
NaCl . . .	5,75	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73
$NaNO_3$ . .	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38
Na_2SO_4 . .	6,12	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38
NaF	6,56	6,97	6,97	6,94	6,90	6,87	6,84	6,81	6,73	6,64
Na-Acetat .	7,53	7,73	7,73	7,53	7,53	7,53	7,53	7,53	7,53	7,53

Auch hier ließ sich der Befund für Mischungen aus gleichen Teilen Eiweiß und Salz elektrometrisch bestätigen: gefunden für 5 NaF + 5 Eiweiß $p_H = 6,64$, 5 Natriumacetat + 5 Eiweiß $p_H = 7,62$.

III. Magnesiumsalze.

	p_H von 5 Salz + 5 H_2O	p_H von Salzlösung zu Eiweißlösung								
		1 : 9	2 : 8	3 : 7	4 : 6	5 : 5	6 : 4	7 : 3	8 : 2	9 : 1
$MgBr_2$ . . .	6,34	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56	7,88	7,28
$Mg(NO_3)_2$.	4,83	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38	7,16	7,16	7,16	7,16
$MgCl_2$ . . .	5,90	7,73	7,73	7,73	7,73	7,52	7,27	7,16	7,16	7,08
$MgSO_4$ . . .	6,04	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56	7,56	7,56	7,38	7,27
Mg-Acetat .	6,64	6,97	6,72	6,64	6,64	6,64	6,64	6,64	6,64	6,64

IV. Ammoniumsalze.

	p_H von 5 Salz + 5 H_2O	p_H von Salzlösung zu Eiweißlösung								
		1 : 9	2 : 8	3 : 7	4 : 6	5 : 5	6 : 4	7 : 3	8 : 2	9 : 1
NH_4CNS . .	4,96	7,56	7,06	6,97	6,89	6,81	6,54	6,23	6,12	5,90
NH_4Br . . .	4,96	7,56	7,16	6,97	6,89	6,54	6,46	6,34	6,23	5,90
NH_4NO_3 . .	5,28	7,73	7,56	6,97	6,99	6,81	6,64	6,46	6,23	6,12
NH_4Cl . . .	5,28	7,73	7,38	6,97	6,89	6,81	6,64	6,46	6,23	5,90
$(NH_4)_2SO_4$.	5,11	7,27	7,16	7,08	6,81	6,64	6,47	6,35	6,24	5,91
NH_4F . . .	5,58	7,16	6,81	6,64	6,53	6,23	6,12	6,12	5,90	5,90
NH_4-Acetat .	4,88	5,28	5,28	5,12	5,00	4,88	4,88	4,88	4,88	4,88

V. Lithiumsalze.

	p_H von 5 Salz + 5 H_2O	p_H von Salzlösung zu Eiweißlösung								
		1 : 9	2 : 8	3 : 7	4 : 6	5 : 5	6 : 4	7 : 3	8 : 2	9 : 1
LiBr . . .	6,23	7,56	7,38	7,38	7,26	7,16	7,06	6,97	6,64	6,46
$LiNO_3$ . . .	5,75	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38	7,26	6,97	6,64
LiCl	5,90	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,56	7,56	7,38	7,16
Li_2SO_4 . . .	6,56	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38
$CaCl_2$ . . .	7,27	7,73	7,56	7,50	7,50	7,38	7,38	7,38	7,38	7,38
$BaCl_2$ . . .	5,58	7,73	7,73	7,73	7,73	7,38	7,38	7,27	6,97	6,64

Bei der Durchsicht der Tabellen erkennt man leicht, daß einzelne der K- und Na-Salze gar keinen Einfluß auf das p_H der Eiweißkörper haben, während ein solcher bei den Mg- und Li-Salzen deutlicher, bei den NH_4-Salzen durchgehend zu erkennen ist. Die Anionen reihen sich so ein, daß die Rhodanide, Jodide, Nitrate am einen Ende der Reihe, die Fluoride und Acetate am anderen sich befinden.

Am übersichtlichsten sind die Verhältnisse zu übersehen, wenn wir die p_H-Werte vergleichen von Mischungen einerseits gleicher Teile Eiweiß und Wasser und andererseits gleicher Teile Eiweiß und Salzlösung. Würden die beiden Lösungen

keinen Puffereinfluß aufeinander ausüben, d. h. sich nur nach ihrem H- und OH-Gehalt neutralisieren, so hätte man die in der Tabelle II als berechnet angegebenen Werte finden müssen.

Tabelle II.

Eiweiß gemischt mit	p_H gefunden colorimetrisch	p_H gefunden elektrometrisch	p_H berechnet
KCNS	7,73	7,80	5,21
KJ	7,73	7,94	7,42
KBr	7,73	7,81	5,21
KNO_3	7,73	7,91	5,29
KCl	7,73	—	6,74
K_2SO_4	7,93	7,82	6,99
KF	5,59	—	5,62
K-Acetat	5,75	—	6,20
NaCNS	7,73	—	8,92
NaJ	7,73	7,84	5,82
NaBr	7,73	7,92	5,82
NaCl	7,73	7,88	6,20
$NaNO_3$	7,93	—	5,64
Na_2SO_4	7,73	7,88	6,74
NaF	6,87	6,64	7,19
Na-Acetat	7,53	7,62	7,64
$MgBr_2$	7,73	—	7,10
$Mg(NO_3)_2$	7,38	—	5,15
$MgCl_2$	7,27	—	6,40
$MgSO_4$	7,56	—	6,62
Mg-Acetat	6,64	6,41	7,33
NH_4CNS	6,81	6,62	5,89
NH_4Br	6,54	6,58	5,39
NH_4NO_3	6,81	6,67	5,63
NH_4Cl	6,81	6,65	5,63
$(NH_4)_2SO_4$	6,64	—	5,44
NH_4F	6,23	6,36	5,98
NH_4-Acetat	4,88	4,79	5,20
LiBr	7,16	—	7,00
$LiNO_3$	7,73	—	6,20
LiCl	7,73	—	6,40
Li_2SO_4	7,73	7,58	7,29
$CaCl_2$	7,38	7,30	7,55
$BaCl_2$	7,38	7,27	5,98

Die Berechnung, über die Herr Dr. M. Koppel und ich im Zusammenhang mit anderen Versuchen berichten werden, baut

sich darauf auf, daß einerseits das Produkt (H)·(OH) = konst. ist (K_w), und andererseits bei der Mischung von Lösungen, die nur total dissoziierte Elektrolyte enthalten, die Differenz zwischen der Summe sämtlicher H- und der Summe sämtlicher OH-Ionen sich nicht ändert.

Der Übersicht halber habe ich auf der beifolgenden Kurve angegeben, wie hoch sich bei Ausschluß von Pufferwirkung p_H berechnet, wenn die Eiweißlösung (p_H = 7,73) mit einer Lösung von beliebigem p_H (zwischen p_H = 4 und p_H = 10) gemischt wird.

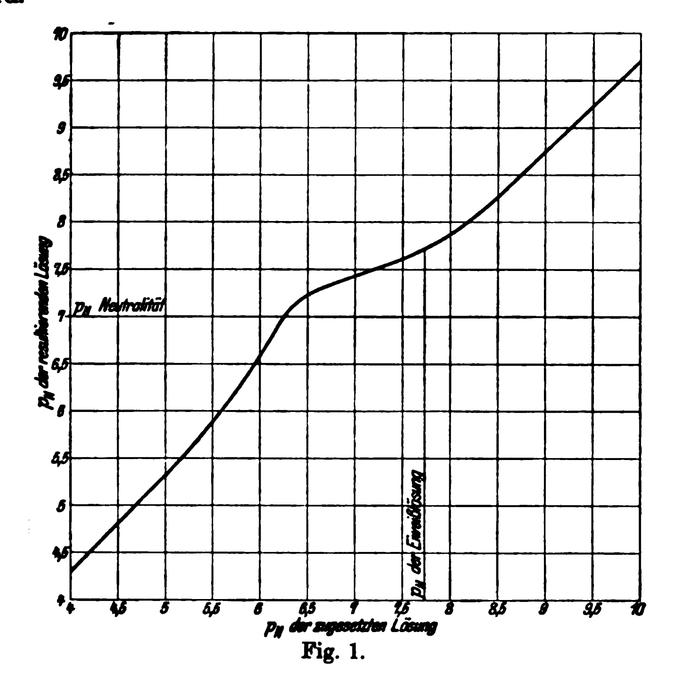


Fig. 1.

Wie man sieht, ist die Reaktion in den Eiweiß-Salzgemischen im allgemeinen nach der Seite des Eiweißes verschoben, d. h. nach derjenigen Lösung, die dem Neutralisationspunkt näher liegt, was auf eine Pufferwirkung hinweist.

Eine einzige Ausnahme machen die Fluoride und Acetate, d. h. man sieht, daß in einer Mischung einer Eiweißlösung von der genannten Konzentration mit molarer Fluorid- resp. Acetatlösung die Reaktion beherrscht wird nicht durch das Eiweiß, sondern durch das Salz.

Für die Acetate ist das Resultat plausibel, da sie der Typus starker Puffer sind; für die Fluoride aber läßt sich leicht zeigen, daß sie sich (z. B. beim Zusammenbringen mit stärkeren Säuren) verhalten wie die Salze einer zweibasischen Säure mit stufenweiser Dissoziation, deren eine Stufe nur schwach dissoziiert und darum als Puffer wirksam ist. Dafür mag folgender Versuch als Beweis dienen:

Tabelle III.

Löslichkeit von Säuren in Wasser und Natriumfluoridlösung.

	Titriert gegen Rosolsäure	p_H gegen Methylorange
5 ccm NaF-Lösung	0,3 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4	—
Salicylsäure mit 5 ccm Wasser . .	0,3 ccm $^n/_{10}$-NaOH	2,60
Salicylsäure mit 5 ccm NaF-Lösung	6,1 „ „	3,36
Asparaginsäure mit 5 ccm Wasser .	3,7 „ „	3,17
Asparaginsäure mit 5 ccm NaF-Lös.	11,7 „ „	4,40
Hippursäure mit 5 ccm Wasser . .	1,1 „ „	3,95
Hippursäure mit 5 ccm NaF-Lösung	4,6 „ „	4,30

Die mit Natriumfluorid hergestellten Lösungen der Säuren lassen bei Zufügen von Mineralsäuren den Überschuß der gelösten Säuren wieder ausfallen.

Über die gesättigte Fettsäure des Kephalins.

Von

J. Parnas.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 14. August 1913.)

Thudichum[1]) gewann die Fettsäuren des Kephalins durch Hydrolyse der Muttersubstanz mit Baryt, isolierte die gesättigte Fettsäure als in Äther und Alkohol unlösliches Bleisalz und krystallisierte die freigemachte Säure um. Aus dem Schmelzpunkt und der Analyse der freien Säure schloß er, daß die Hauptmenge der gesättigten Fettsäure im Kephalin Stearinsäure ist, daß aber daneben noch eine niedriger schmelzende, homologe Fettsäure in geringer Menge vorkommt.

Dieser Anschauung schloß sich auch Cousin[2]) auf Grund einer sorgfältigen Untersuchung des Kephalins aus Rinderhirn an.

Sigmund Fränkel und L. Dimitz[3]) hydrolysierten Kephalin aus Menschenhirn mit alkoholischer Salzsäure[4]), isolierten Bleisalze der Fettsäuren und schlossen aus dem Schmelzpunkt und der Analyse des Bleisalzgemisches, daß ein Gemisch von Palmitinsäure mit Stearinsäure vorlag, in dem die Palmitinsäure vorherrschte. Auf Grund ihres Befundes sprachen sie die Meinung aus, daß im Menschengehirn ein Gemisch von viel „Pal-

---

[1]) Chemische Konstitution des Gehirns, S. 148. Tübingen 1901.

[2]) Journ. d. Pharm. et de Chim. 24, 101.

[3]) Diese Zeitschr. 21, 343.

[4]) Diese Autoren erhalten dabei nicht die Ester der Fettsäuren, die bei der sauren Alkoholyse der Phosphatide wie der Fette entstehen, sondern die Fettsäuren selbst (s. Rollet, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 210 u. 62, 410, sowie Levene, Journ. of Biolog. Chem. 15, 153). Offenbar vollzog sich die Hydrolyse in wässerig-alkoholischer Lösung.

mitylkephalin" mit wenig „Stearylkephalin" vorkommt, doch läßt ihre Begründung mannigfachen Bedenken Raum[1]).

Ich habe Kephalin, das nach dem früher von mir beschriebenen Verfahren dargestellt worden ist[2]), auf seine gesättigte Fettsäure untersucht und gefunden, daß die Stearinsäure die einzige gesättigte Fettsäure ist, die im Kephalin aus Menschengehirn vorkommt.

65 g reines frisches Kephalin wurden in 3 l Wasser mit 200 g Baryt 8 Stunden lang im Autoklaven auf 105° erhitzt. Die ausgeschiedenen, schwach gelblichen Seifen wurden ausgewaschen und durch Schütteln mit kaltem Äther erschöpfend ausgezogen, dann mit heißem Alkohol gewaschen und durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure und mit Äther zersetzt.

Die getrocknete ätherische Lösung hinterließ nach dem Verdampfen 21 g der festen, schwach gelb gefärbten Fettsäure; diese wurde in 80 g Essigester aufgenommen, mit Tierkohle 10 Stunden lang auf dem Wasserbad digeriert, heiß filtriert und durch Abkühlen zur Krystallisation gebracht. Ausbeute: 15,8 g. Schmelzpunkt: 69,5° korr.

Durch Umkrystallisieren aus Alkohol sowie aus Ligroin wird der Schmelzpunkt nicht mehr verändert. Die Mischprobe, ausgeführt mit einer Stearinsäure, die durch Verseifen von reinem, richtig schmelzendem Cholesterinstearat[3]) dargestellt worden war, ergab die Identität beider Körper.

---

[1]) Das Bleisalzgemisch, wie es F. und D. beschreiben, mußte die Oxysäuren enthalten, die durch Autoxydation des Kephalins entstehen: das angewandte Gehirnmaterial war bei hoher Temperatur an der Luft getrocknet; dadurch konnten leicht zu niedrige Kohlenstoffwerte veranlaßt sein. Außerdem werden solche Bleisalze leicht basisch erhalten, wodurch Fehler in der gleichen Richtung bedingt werden. F. und D. erwähnen auch, daß sie die freigemachten Fettsäuren in eine Fraktion mit dem (auffallend hohen) Schmelzpunkt 72° und eine von dem Schmelzpunkt 62° „auseinanderkrystallisiert" haben: es braucht wohl kaum bemerkt zu werden, daß der Schmelzpunkt 62° bei einem Fettsäurengemisch nicht eindeutig ist und keineswegs als Nachweis der Palmitinsäure ausreichen kann, wenn er nicht auf ein vollständigeres Schmelzpunktdiagramm und die Analyse gestützt ist.

[2]) Diese Zeitschr. 22, 411, 1909.

[3]) Ich fand diesen Körper in großen Mengen in einem alten Kalbsgehirnpulver, das seit mehreren Jahren im hiesigen Institut lagerte. In diesem Material wimmelte es von Brotkäfern (Anobium paniceum), deren Exkretionsprodukt vermutlich das Cholesterinstearat darstellt. In frischem Gehirn findet man keine Cholesterinester.

Analyse: 0,1259 g: 0,3508 g CO_2 und 0,1455 g H_2O
gleich 75,99 % C und 12,93 % H.
Berechnet: 75,99 % C und 12,76 % H für $C_{18}H_{36}O_2$.
Acidität: 0,6234 g Säure: 21,96 ccm 0,1 n-NaOH.
Molekulargewicht: 283,9.
Berechnet: $C_{18}H_{36}O_2$: 284.

Bei der beschriebenen Art der Kephalinhydrolyse wird die gesättigte Fettsäure zuerst von dem phosphorhaltigen Komplex losgelöst: es wurde geprüft, ob noch gesättigte Fettsäure bei diesem Komplex verblieben ist und ob auch diese mit Stearinsäure identisch sei. Die Kephalinphosphorsäure aus der oben beschriebenen Hydrolyse wurde von Barium befreit, mit Natronlauge im Autoklaven weiter hydrolysiert. Die Seifen wurden mit Chlorbarium gefällt und wie oben verarbeitet: ich gewann dabei noch 2 g ätherunlöslicher Barytseifen. Die aus ihnen isolierte Fettsäure erwies sich durch ihren Schmelzpunkt, die Mischprobe und das Alkalibindungsvermögen als Stearinsäure.

0,3876 g verbrauchen 13,6 ccm 0,1 n-NaOH, entsprechend dem Molekulargewicht 285.

Berechnet: 284.

Da sich die gesamte, aus Kephalin durch Barythydrolyse abgespaltene gesättigte Fettsäure nach Umkrystallisieren aus einer kleinen Menge Lösungsmittel als Stearinsäure erweist, so besteht kein Grund zur Annahme, daß neben dieser Fettsäure ein niedrigeres oder höheres Homologes im Kephalin vorkäme. Die Annahme, daß im Menschengehirn ein „Palmitylkephalin“ neben einem „Stearylkephalin“ vorkommt, entbehrt der Grundlage.

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich zur Frage der Einheitlichkeit des Kephalins folgendes geäußert: „Es läßt sich nicht sagen, ob das Kephalin eine ‚Gruppe‘ von ähnlichen Verbindungen oder einen Körper mit anhaftenden Verunreinigungen und Zersetzungsprodukten darstellt.“

[1]) Diese Zeitschr. 22, 411, 1909.

Auch Ivar Bang hat sich in seinen beiden kritischen Zusammenstellungen der Lipoidchemie[1]) mit größter Reserve in demselben Sinne ausgesprochen.

Seitdem ist die Sachlage klarer geworden.

Durch die unter meiner Leitung ausgeführten Arbeiten von A. Baumann[2]) und Montague Renall[3]) ist es sichergestellt worden, daß der gesamte Stickstoff des Kephalins einer primären Base angehört, und es erscheint sehr wahrscheinlich, daß neben Oxäthylamin keine andere Base im Kephalin vorkommt[4]), jedenfalls nicht das sonst so verbreitete Cholin.

In der vorliegenden Arbeit wird der Nachweis erbracht, daß die gesättigte Fettsäure des Kephalins nur aus Stearinsäure besteht. Dadurch wird das Kephalin ganz erheblich enger definiert. Vergleicht man es mit dem sog. Lecithin, in dem Oxäthylamin neben Cholin, Myristinsäure und Palmitinsäure neben Stearinsäure, Ölsäure neben ungesättigteren Fettsäuren enthalten sind, so erscheint das Kephalin mit seinen wenigen Bausteinen trotz des sehr hohen Molekulargewichts[5]) als ein Körper von relativ einfacher Zusammensetzung.

---

[1]) Chemie und Biochemie der Lipoide (Wiesbaden 1910), sowie Biochemisches Handlexikon 4.

[2]) Diese Zeitschr. 54, 30.

[3]) Ibidem.

[4]) In dem Versuch 2 von Baumann (S. 36) ist nachzutragen, daß ich aus der Restlösung, deren Stickstoff sich als primärer Aminostickstoff erwiesen hat, durch Eindampfen und Versetzen mit Goldchlorid noch weitere Mengen (1,8 g) Oxäthylaminchloraurat gewonnen habe.

[5]) Diese Zeitschr. 42, 214.

Über Komplementwirkung bei Komplementbindungs-reaktionen.

Von

Wilhelm Spät.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Prag.)

(Eingegangen am 15. August 1913.)

In einer Reihe von Arbeiten, die dem Studium der Frage der Bedeutung der Antigen-Antikörper-Verankerung für das Zustandekommen der Komplementbindungsreaktion gewidmet waren, konnte von Weil und mir unter den verschiedensten Modalitäten der Versuchsbedingungen regelmäßig festgestellt werden, daß — entgegen der Annahme der Ehrlichschen Theorie — im ganzen Verlauf dieser Reaktion der Immunkörper (Amboceptor) niemals eine Bindung oder Verankerung mit dem Antigen und dem Komplement eingeht, solange das Antigen in gelöster Form zur Verwendung kam. Es konnte vielmehr mit Sicherheit nachgewiesen werden, daß nach Ablauf der Reaktion, selbst nach Einwirkung des Komplements, der Immunkörper sowohl qualitativ als auch quantitativ unverändert und frei war und aus dem Antigen-Antikörper- bzw. Antigen-Antikörper-Komplementgemische ohne weiteres durch Vollbakterien eliminiert werden konnte.

Dieser konstante Befund gilt sowohl für Bakterien- als auch Eiweißantisera, und es konnte insbesondere am Immunkörper keinerlei Veränderung weder an der cytophilen noch an der komplementophilen Gruppe wahrgenommen werden.

Um die Möglichkeit des Inkrafttretens größerer chemischer Affinitäten bzw. Aviditäten mit Sicherheit ausschalten zu können, wurde in anderen Versuchsreihen der Immunkörper statt durch Bakterien durch andere zweifellos unspezifische Substanzen, wie koagulierte Blutsera, eliminiert, so daß im Resultat lediglich

eine rein physikalische Adsorption des Immunkörpers in Erscheinung trat.

Auf Grund dieser Befunde haben wir uns die Frage vorgelegt, wie denn bei der Komplementbindungsreaktion die einzelnen Stoffe aufeinander einwirken bzw. welche Veränderungen unter dem Einfluß des Komplements in der Antigen-Antikörpermischung entstehen, und mußten, da das Komplement selbstverständlich verschwindet und wir den Immunkörper in derartigen Versuchen ausnahmslos immer unverändert vorfanden, die Frage noch näher präzisieren, und zwar in dem Sinne, ob nicht im Verlaufe der Komplementbindungsreaktion das Antigen eine Änderung erfährt.

Dem Studium dieser Frage galten die nachstehenden Untersuchungen.

Bei theoretischer Erwägung mag die Annahme einer Veränderung des Antigens unter dem Einflusse des Immunkörpers und Komplements nicht unwahrscheinlich erscheinen, wenn man naheliegende Analogien in Betracht zieht. In einem Gemenge von Choleravibrionen, Choleraimmunserum und Komplement tritt in sinnfälligster Weise der Zerfall der Bakterienleiber in Granula in den Vordergrund, also in erster und fast einziger Linie eine tiefgreifende Veränderung des Antigens. Desgleichen finden wir bei Präzipitationsversuchen sowie bei der Agglutination eigentlich auch nur Alterationen des Antigens.

Es war daher zu untersuchen, ob auch in solchen Fällen, wo das Antigen in Form von gelösten Extrakten vorliegt, wo das entstehende Produkt der stattgefundenen Reaktion in Lösung bleibt und sich daher der direkten Wahrnehmung entzieht, das Antigen eine Veränderung erfährt, namentlich aber, ob dasselbe nach erfolgter gegenseitiger Einwirkung — ebenso wie es für den Immunkörper nachgewiesen wurde — noch zu weiteren Reaktionen herangezogen werden kann.

Nach der soeben formulierten Fragestellung war der Gang der Versuche im Prinzip klar gegeben. Wir mußten die einzelnen Agenzien wie bei einem Komplementbindungsversuch zusammenbringen und nach erfolgter Einwirkung des Komplements feststellen, ob das Antigen noch weiter reaktionsfähig ist. Die Versuche waren jedoch in technischer Beziehung sehr schwierig, indem nicht nur bei jedem einzelnen Antigen und

Immunserum die optimalen wirksamen Mengen jedesmal in einem Vorversuch ermittelt werden mußten, sondern hauptsächlich aus dem Grunde, weil für jeden Versuch überdies die erforderliche Komplementmenge mit peinlichster Genauigkeit sowohl nach unten als nach oben abgegrenzt werden. Dies war technisch nicht immer durchführbar, da nicht alle quantitativen Verhältnisse des Hauptversuches im Vorversuch berücksichtigt werden konnten. Von der richtigen Wahl der passenden Quantität des Komplements war aber der Ausfall eines jeden Versuches in erster Linie abhängig.

Zum genaueren Verständnis der ins Gewicht fallenden Momente müssen einige Details der Versuchsanordnung angeführt werden. Es wurden die in Vorversuchen ermittelten geeigneten Mengen von Antigen und Immunkörper mit Komplement gemischt und auf eine Stunde in den Brutschrank gestellt. Nach dieser Zeit wurde das Komplement dadurch ausgeschaltet, daß die Röhrchen in einem Wasserbade auf 56° — gewöhnlich $^1/_2$ Stunde lang — erhitzt wurden. Daß der Immunkörper nach dieser Prozedur in keiner Weise alteriert wurde, wußten wir — wie bereits erwähnt — aus früheren Untersuchungen. War auch das Antigen unverändert, so mußte nach neuerlichem Zusatz von Komplement eine Fixation desselben, Ausbleiben der Hämolyse — andernfalls Hämolyse eintreten. Schon in dieser Beziehung ergaben sich jedoch wichtige komplizierende Momente. Denn wir wissen, daß ein Antigen-Antikörper-Gemisch viel mehr Komplement zu binden vermag, als die übliche Menge von 0,05 bis 0,1 ccm. Es mußte daher für unsere Zwecke ein Quantum Komplement gewählt werden, das mit Sicherheit vollständig fixiert wurde, das aber so knapp an der zulässigen Grenze stand, daß eine minimale Überschreitung desselben schon zur Hämolyse führte. Eine diesbezügliche Orientierung gibt ein folgendermaßen angeordneter Versuch, bei dem eine Reihe von Röhrchen mit den gleichen Mengen von Antigen, Antikörper und Komplement beschickt wurden; nach einem 1stündigen Aufenthalt im Brutschrank wurden zum ersten Röhrchen sensibilisierte Hammelblutkörperchen, zu den übrigen noch einmal 0,1 ccm Komplement, nach einer weiteren Stunde bei 37° dem zweiten Röhrchen sensibilisierte Blutkörperchen, den übrigen wieder 0,1 ccm Komple-

ment zugesetzt usw., um zu sehen, wie hoch die größte Komplementmenge ist, die noch gebunden werden kann. Das Resultat ist im nachstehenden Vorversuch angeführt.

Vorversuch.

Röhrchen 1. 0,2 ccm Choleraextrakt + 0,1 ccm Choleraimmunserum + 0,1 ccm Komplement 1 Stunde bei 37°, sodann Zusatz von sensibilisierten Hammelbluterythrocyten. Nach 1 Stunde: vollständige Hemmung.

Röhrchen 2. 0,2 ccm Extrakt + 0,1 ccm Immunserum + 0,1 ccm Komplement; 1 Stunde bei 37°, nach dieser Zeit wieder 0,1 ccm Komplement, 1 Stunde bei 37°, dann Zusatz von sensibilisierten Hammelerythrocyten. Nach 1 Stunde: vollständige Hemmung.

Röhrchen 3. 0,2 ccm Extrakt + 0,1 ccm Immunserum + 0,1 ccm Komplement; 1 Stunde bei 37°, dann 0,1 ccm Komplement, wieder 1 Stunde im Brutschrank und zum 3. mal 0,1 ccm Komplement und 1 Stunde bei 37°, zum Schlusse Zusatz von Hammelblut. Nach 1 Stunde: komplette Lösung.

Kontrollen:

Röhrchen 4. 0,2 ccm Extrakt + 0,1 ccm Komplement: komplette Lösung.

Röhrchen 5. 0,1 ccm Immunserum + 0,1 ccm Komplement: komplette Lösung.

Da der Komplementgehalt des Meerschweinchenserums ein sehr schwankender ist, so müßte vor jedem Versuch die zu wählende Serummenge in einem solchen zeitraubenden Vorversuch ermittelt werden. Hierbei würde aber kaum so viel Zeit übrigbleiben, daß an einem Tage der Haupt- und Vorversuch mit demselben Komplement durchgeführt werden könnte.

Wir wählten daher in der Folge — um die Frage überhaupt lösen zu können — die Menge von 0,3 ccm Komplement. Bei diesem schematisierenden Verfahren mußten wir aber in den Kauf nehmen, daß mehrere Versuche, sei es wegen zu hoher oder zu niedriger Komplementmenge, mißlangen. In der Mehrzahl der Fälle paßte gerade die im angeführten Vorversuch festgestellte Menge des Meerschweinchenserums, und die Resultate waren — wie aus den unten anzuführenden Protokollen ersichtlich — einwandfrei und vollkommen übereinstimmend.

Wir arbeiteten mit Choleraextrakt und Choleraimmunserum, Typhusextrakt und Typhusimmunserum, Menschenserum und Menschenantiserum, sowie mit sog. Cholerapräzipitat und Choleraimmunserum.

Darstellung der Extrakte: Eine gut gewachsene 24stündige Cholera- bzw. Typhuskultur in einer Kolleschen Schale wurde mit 15 bis 20 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, 3 bis 4 Stunden im Wasserbade bei 65° erhitzt, über Nacht bei Zimmertemperatur belassen und am nächsten Morgen zentrifugiert. Der klare Abguß wurde benützt, nachdem die eigenhemmende Dosis ermittelt wurde.

Die Mehrzahl der Versuche wurde mit Choleraextrakt durchgeführt. Die Versuche enthalten 7 Gruppen von Röhrchen, eine jede Gruppe gewöhnlich 3 Proben mit abgestuften Verdünnungen. Die wichtigste Gruppe ist die zweite, die das behandelte Problem demonstriert. Wir sehen hier ein Gemisch von Antigen, Immunkörper und Komplement, das 1 Stunde (in anderen Versuchen länger) im Brutschrank verweilt. Sodann wird das Komplement durch Erhitzen vernichtet, und um die Wirksamkeit bzw. die Veränderung des Extraktes zu demonstrieren, wird neuerdings Komplement zugesetzt und nach 1stündiger Einwirkung bei 37° sensibilisierte Hammelbluterythrocyten zugesetzt. Alle übrigen Gruppen stellen Kontrollen dar.

Tabelle I.

	Nr.	Cholera-extrakt ccm	Cholera-Immunserum ccm	Komplement ccm				Resultat
I.	1	0,25	0,075	—	1 Stunde bei 37°, dann 1/2 Stunde bei 56°.		Überall 0,05 ccm Komplement; nach 1 Stunde bei 37° sensibilisierte Hammelerythrocyten.	Vollständ. Hemmung
	2	0,25	0,050	—				do.
	3	0,25	0,010	—				do.
II.	4	0,25	0,075	0,3				Komplette Lösung
	5	0,25	0,050	0,3				do.
	6	0,25	0,010	0,3				do.
III.	7	0,25	0,075	0,3 inakt.				Vollständ. Hemmung
	8	0,25	0,050	0,3 „				do.
	9	0,25	0,010	0,3 „				do.
IV.	10	0,25	0,075	0,3		Zusatz von je 0,01 ccm Immunserum		Komplette Lösung
	11	0,25	0,050	0,3				do.
	12	0,25	0,010	0,3				do.
V.	13	0,25	—	0,3				Vollständ. Hemmung
	14	0,25	—	0,3				do.
	15	0,25	—	0,3				do.
VI.	16	0,15	0,075	0,3		Zusatz von je 0,1 ccm Extrakt		do.
	17	0,15	0,050	0,3				do.
	18	0,15	0,010	0,3				do.
VII.	19	0,25	—	—				Komplette Lösung
	20	—	0,075	—				do.

Zu den Proben der Gruppe VI wurde nur 0,15 ccm und nachträglich 0,1 ccm Extrakt zugesetzt, damit durch zu große Extraktmengen (0,5 ccm) keine Eigenhemmung entsteht, wodurch das Resultat nicht eindeutig wäre. Die gleiche Vorsicht wurde bei anderen Versuchen geübt.

Wir ersehen aus diesem Versuche, daß durch die Einwirkung des frischen Komplements der Extrakt unwirksam geworden ist, denn in der Gruppe II finden wir in allen Röhrchen komplette Lösung. Die Proben der Gruppen III zeigen, daß diese Wirkung nur dem frischen Meerschweinchenkomplement zukommt, da das auf 56° erhitzte Meerschweinchenserum wirkungslos ist (Hemmung).

Daß das Eintreten der Hämolyse tatsächlich auf die Zerstörung bzw. Veränderung des Extraktes zurückzuführen ist, beweisen die Proben der Gruppe IV und VI. Wird nämlich nachträglich Immunserum zugesetzt, um den eventuell zerstörten Immunkörper zu ersetzen, so erfolgt ebenfalls Hämolyse, ein Beweis, daß am Ausbleiben der Komplementfixation nicht das Fehlen des Immunkörpers schuld ist (Gruppe IV). Wird aber nachträglich Extrakt zugesetzt, wie dies in der Gruppe VI der Fall ist, so bleibt die Hämolyse aus, weil durch die neue Extraktportion die Komplementbindung wieder ermöglicht wurde. Die Proben der Gruppe V zeigen ferner, daß die Zerstörung des Extraktes durch das frische Meerschweinchenserum nur vermittels des Immunkörpers möglich ist. Hier erfolgte die Einwirkung des Komplements ohne Immunkörper, der Extrakt wurde nicht verändert und ist bei nachträglichem Zusatz von Immunserum zur Komplementbindung befähigt.

Gruppe I zeigt die Wirksamkeit der einzelnen Agenzien, die Gruppe VII endlich schließt deren Eigenhemmung aus.

In der Tabelle II lassen wir ein Beispiel mit einem anderen Extrakt und einem anderen Immunserum folgen.

Die angeführten Beispiele zeigen demnach in unzweideutiger Weise, daß bei der Komplementbindungsreaktion die Zerstörung des Antigens die einzig wahrnehmbare Veränderung der reagierenden Substanzen ist, und daß diese Veränderung nur durch frisches Meerschweinchenkomplement herbeigeführt wird, und zwar durch Vermittlung des Immunkörpers.

Da der Immunkörper, wie in früheren Arbeiten nachgewiesen werden konnte, niemals gebunden bzw. verankert wird,

so erscheint die **Bordet**sche Erklärung für das Zustandekommen der Reaktion am plausibelsten. Hiernach wäre der Immunkörper der Sensibilisator, eine Art Beize, die die Einwirkung des Komplements erleichtert bzw. ermöglicht.

Tabelle II.

	Nr.	Cholera-extrakt ccm	Cholera-Immunserum ccm	Komplement ccm				Resultat
I.	1	0,12	0,025	—	2 Stunden bei 37°, dann 20 Minuten bei 56°.		Überall 0,05 ccm Komplement; nach 1 Stunde bei 37° sensibilisiertes Hammelblut.	Vollständ. Hemmung
	2	0,12	0,010	—				do.
	3	0,12	0,005	—				do.
II.	4	0,12	0,025	0,3				Komplette Lösung
	5	0,12	0,010	0,3				do.
	6	0,12	0,005	0,3				do.
III.	7	0,12	0,025	0,3 inakt.				Vollständ. Hemmung
	8	0,12	0,010	0,3 „				do.
	9	0,12	0,005	0,3 „				do.
IV.	10	0,12	0,025	0,3		Zusatz von je 0,01 ccm Immunserum		Komplette Lösung
	11	0,12	0,010	0,3				do.
	12	0,12	0,005	0,3				do.
V.	13	0,12	—	0,3				Vollständ. Hemmung
	14	0,12	—	0,3				do.
	15	0,12	—	0,3				do.
VI.	16	0,08	0,025	0,3		Zusatz von je 0,08 ccm Extrakt		do.
	17	0,08	0,010	0,3				do.
	18	0,08	0,005	0,3				Etwas Lösung
VII.	19	0,12	—	—				Komplette Lösung
	20	—	0,025	—				do.

Wir haben bereits erwähnt, daß vor jedem Versuch das Komplement austitriert wurde. Das betrifft jedoch für die späteren Versuche nur die Menge des nachträglich zugesetzten Komplements; für die Einwirkung auf die Extrakte verwendeten wir jedesmal die in den ersten Vorversuchen als ungefähren Durchschnitt ermittelte Menge von 0,3 ccm, weil die Ermittelung des fallweise passenden Quantums so zeitraubend war, daß dadurch die Ausführung des Haupt- und Vorversuches an **einem** Tage in Frage gestellt wurde; der ermittelte Titer des Meerschweinchenserums hat jedoch naturgemäß nur für denselben Tag einen Wert. Die Folge war, daß — wie bereits erwähnt — mehrere Versuche bei der Menge von 0,3 ccm mißlangen, jeden-

falls zeigten nicht alle Versuche ein so scharfes Bild wie die in den Tabellen I und II angeführten. Wir wollen daher von den sehr zahlreichen Versuchen noch einige anführen, bei denen die Komplementmenge von 0,3 ccm zu niedrig war, wo aber dank dem Umstande, daß in jeder Gruppe mehrere Verdünnungen gemacht wurden, daß Resultat dennoch im Prinzip das gleiche war wie in den in den Tabellen I und II vorgeführten Beispielen. Bei zu hohem Komplementgehalt war naturgemäß das Resultat negativ (überall Hämolyse).

Tabelle III.

	Nr.	Cholera-extrakt ccm	Cholera-Immunserum ccm	Komplement ccm				Resultat
I.	1	0,25	0,075	—	1 Stunde bei 37°, dann $^1/_2$ Stunde bei 56°.		Überall 0,05 ccm Komplement, 1 Stunde bei 37°, dann sensibilisiertes Hammelblut.	Vollständ. Hemmung
	2	0,25	0,050	—				do.
	3	0,25	0,010	—				do.
II.	4	0,25	0,075	0,3				Mäßige Lösung
	5	0,25	0,050	0,3				Komplette Lösung
	6	0,25	0,010	0,3				do.
III.	7	0,25	0,075	0,3 inakt.				Vollständ. Hemmung
	8	0,25	0,050	0,3 „				do.
	9	0,25	0,010	0,3 „				do.
IV.	10	0,25	0,075	0,3		Zusatz von je 0,01 ccm Immunserum		Komplette Lösung
	11	0,25	0,050	0,3				do.
	12	0,25	0,010	0,3				do.
V.	13	0,25	—	0,3				Vollständ. Hemmung
	14	0,25	—	0,3				do.
	15	0,25	—	0,3				do.
VI.	16	0,15	0,075	0,3		Zusatz von je 0,1 ccm Extrakt		do.
	17	0,15	0,050	0,3				do.
	18	0,15	0,010	0,3				Mäßige Lösung
VII.	19	0,25	—	—				Komplette Lösung
	20	—	0,075	—				do.

Bei den Versuchen dieses Typus war infolge geringen Komplementgehaltes des Meerschweinchenserums die Zerstörung der Extrakte keine vollständige. Wir finden daher in der Gruppe II und IV nicht eine komplette Lösung, sondern nur eine geringe Andeutung in der ersten, starke bzw. komplette Lösung in den zwei übrigen Verdünnungen.

Tabelle IV.

	Nr.	Cholera-extrakt ccm	Cholera-Immunserum ccm	Komplement ccm				Resultat
I.	1	0,12	0,04	—	2½ Stunden bei 37°, dann ¼ Stunde bei 56°.		0,07 ccm Komplement; nach 1 Stunde bei 37° sensibilisierte Erythrocyten.	Vollständ. Hemmung
	2	0,12	0,03	—				do.
	3	0,12	0,02	—				do.
II.	4	0,12	0,04	0,3				Spur Lösung
	5	0,12	0,03	0,3				Starke Lösung
	6	0,12	0,02	0,3				do.
III.	7	0,12	0,04	0,3 inakt.				Vollständ. Hemmung
	8	0,12	0,03	0,3 „				do.
	9	0,12	0,02	0,3 „				do.
IV.	10	0,12	0,04	0,3		Zusatz von Immunserum		Mäßige Lösung
	11	0,12	0,03	0,3				Starke Lösung
	12	0,12	0,02	0,3				do.
V.	13	0,12	—	0,3				Vollständ. Hemmung
	14	0,12	—	0,3				do.
	15	0,12	—	0,3				do.
VI.	16	0,08	0,04	0,3		Zusatz von Extrakt		do.
	17	0,08	0,03	0,3				do.
	18	0,08	0,02	0,3				do.
VII.	19	0,12	—	—				Komplette Lösung
	20	—	0,04	—				do.

Wir lassen umstehend ein Beispiel für Versuche folgen, die mit Typhusextrakt und Typhusimmunserum ausgeführt wurden (Tabelle V). Die Darstellung der Extrakte erfolgte in gleicher Weise wie bei Cholera.

Die Resultate sind die gleichen wie bei Cholera.

Ferner wurden analoge Versuche mit Menschenserum und Menschenantiserum ausgeführt (Tabelle VI). Wir haben hierbei, wie übrigens auch bei den Versuchen mit bakteriellen Antiseris, die Dosierung so gewählt, daß keine (wenigstens sichtbare) Präcipitation entsteht, die den Verlauf stören könnte.

Das Resultat stimmt mit dem bei Typhus und Cholera vollkommen überein.

Zum Schlusse möchten wir noch einen Versuch anführen, der mit „Cholerapräcipitat“ als Antigen ausgeführt wurde. Das

Tabelle V.

	Nr.	Typhus-extrakt ccm	Cholera-Immun-serum ccm	Kom-plement ccm				Resultat
I.	1	0,1	0,025	—	$2^1/_2$ Stunden bei 37°, dann $^1/_4$ Stunde bei 56°.		Nach 15 Min. bei 37° 0,05 Komplement, 1 Std. bei 37°, dann sensibilisiertes Hammelblut.	Vollständ. Hemmung
	2	0,1	0,010	—				do.
	3	0,1	0,005	—				do.
II.	4	0,1	0,025	0,3				Komplette Lösung
	5	0,1	0,010	0,3				do.
	6	0,1	0,005	0,3				do.
III.	7	0,1	0,025	0,3 inakt.				Vollständ. Hemmung
	8	0,1	0,010	0,3 „				do.
	9	0,1	0,005	0,3 „				do.
IV.	10	0,1	0,025	0,3		Nachträgl. Zusatz von Immunserum 0,025, 0,01 0,005 ccm		Komplette Lösung
	11	0,1	0,010	0,3				do.
	12	0,1	0,005	0,3				do.
V.	13	0,1	—	0,3				Vollständ. Hemmung
	14	0,1	—	0,3				do.
	15	0,1	—	0,3				Spur Lösung
VI.	16	0,1	0,025	0,3		Zusatz von je 0,1 ccm Extrakt		Vollständ. Hemmung
	17	0,1	0,010	0,3				do.
	18	0,1	0,005	0,3				do.
VII.	19	0,1	—	—				Komplette Lösung
	20	—	0,025	—				do.

Präcipitat erhielten wir auf die Weise, daß der auf die oben beschriebene Art bereitete Choleraextrakt mit ungefähr der zweifachen Menge von frischem normalen Rinderserum gemischt wurde. Das im Wasserbade bei 37° entstandene Präcipitat wurde zentrifugiert, 3 mal mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und schließlich in Kochsalzlösung als dichte Emulsion aufgeschwemmt. Aus dem Extrakt zweier Kollescher Schalen (40 ccm) und 80 ccm Rinderserum erhielten wir eine Präcipitatmenge, die bloß für 10 Röhrchen ausreichte. Mit diesen wurde der Versuch derart ausgeführt, daß nur die wichtigsten Kontrollen aufgenommen wurden (Tabelle VII).

Wir sehen auch an diesem Versuche, bei dem ein Mittelding zwischen dem gelösten Extrakt und der unversehrten Leibessubstanz der Choleravibrionen das Antigen darstellt, daß die einzige Veränderung an dem letzteren wahrzunehmen ist.

Tabelle VI.

	Nr.	Menschen-antiserum ccm	Menschen-serum ccm	Kom-plement ccm			Resultat
I.	1	0,1	0,00050	—	Eine Stunde bei 37°, dann 1/2 Stunde bei 56°.		Vollständige Hemmung
	2	0,1	0,00010	—			Starke Lösung
	3	0,1	0,00001	—			Komplette Lösung
II.	4	0,1	0,00050	0,3			Komplette Lösung
	5	0,1	0,00010	0,3			do.
	6	0,1	0,00001	0,3			do.
III.	7	0,1	0,00050	0,3 inakt.			Vollständige Hemmung
	8	0,1	0,00010	0,3			Starke Lösung
	9	0,1	0,00001	0,3			Fast komplette Lösung
IV.	10	0,1	0,00050	0,3		Zusatz von je 0,1 ccm Anti-serum	Fast komplette Lösung
	11	0,1	0,00010	0,3			Komplette Lösung
	12	0,1	0,00001	0,3			do.
V.	13	—	0,00050	0,3			Vollständige Hemmung
	14	—	0,00010	0,3			do.
	15	—	0,00001	0,3			Mäßige Lösung
VI.	16	0,1	0,00050	0,3		Zusatz von Men-schen-serum	Vollständige Hemmung
	17	0,1	0,00010	0,3			do.
	18	0,1	0,00001	0,3			Starke Lösung
VII.	19	0,1	—	—			Komplette Lösung
	20	0,1	0,00050	—			do.

Tabelle VII.

	Nr.	Cholera-präcipitat ccm	Cholera-Immun-serum ccm	Kom-plement ccm			Resultat
I.	1	0,4	0,075	—	1 Std. 37°, dann 1/2 Std. 56°.	0,05 Komplement, 1 Std. bei 37°, dann sensibilisierte Hammelbluterythrocyten	Vollständige Hemmung
	2	0,4	0,050	—			do.
	3	0,4	0,010	—			do.
II.	4	0,4	0,075	0,3 inakt.			Vollständige Hemmung
	5	0,4	0,050	0,3 „			do.
	6	0,4	0,010	0,3 „			do.
III.	7	0,4	0,075	0,3			Fast komplette Lösung
	8	0,4	0,050	0,3			Komplette Lösung
	9	0,4	0,010	0,3			do.
IV.	10	0,4	—	—			Komplette Lösung
	11	—	0,075	—			do.

Überblicken wir alle Versuche, von denen hier nur ein Teil als Paradigma wiedergegeben wurde, so geht aus denselben übereinstimmend hervor, daß die einzige nachweisbare Veränderung der reagierenden Stoffe in dem Antigen wahrzunehmen ist, welches derart alteriert erscheint, daß es zu einer weiteren Reaktion nicht mehr fähig ist. Diese Veränderung kommt nur unter dem Einfluß des frischen Meerschweinchenkomplements zustande, während das auf 56° erhitzte Meerschweinchenserum sich vollkommen indifferent verhält und keinerlei wahrnehmbare Veränderungen zu setzen vermag. Letztere Feststellung ist übrigens noch besonders bemerkenswert: im Sinne der Ehrlichschen Auffassung müßte bei der Versuchsanordnung, wie wir sie in den Proben der Gruppe III gewählt haben (Extrakt + Immunserum + inaktiviertes Meerschweinchenserum) — da ja die komplementophile Gruppe des Immunkörpers verstopft ist — Hämolyse eintreten; wir haben jedoch in überaus zahlreichen Versuchen ausnahmslos das Gegenteil — vollständige Hemmung — konstatieren können.

Ermöglicht wird die soeben besprochene Einwirkung des frischen Komplements durch die Anwesenheit des Immunkörpers, der nachgewiesenermaßen weder mit dem Antigen noch mit dem Komplement eine Verankerung eingeht und dennoch einen unentbehrlichen Faktor zum Zustandekommen der Komplementbindungsreaktion darstellt. In den Proben der Gruppe V sehen wir, daß ohne Immunserum eine Alteration des Antigens, die nach den vorliegenden Untersuchungen das eigentliche Wesen der Reaktion ausmacht, nicht eintritt. Der Immunkörper bereitet den Grund vor für die Veränderungen, die das Komplement durchführt. Es ist daher am Platze, mit Bordet von Sensibilisierung zu sprechen, während nach früheren Untersuchungen von Weil und uns die Bezeichnung Amboceptor jeder experimentellen Begründung entbehrt.

Nach den vorstehenden Untersuchungen stellt sich die Komplementbindungsreaktion in einem ganz anderen Lichte dar, als man sie nach der Ehrlichschen Vorstellung zu betrachten gewöhnt war. Sie rangiert nach ihrem Mechanismus in dieselbe Reihe wie die übrigen Immunitätsreaktionen, die Agglutination, Präcipitation und Bakteriolyse. Bei allen diesen Reak-

tionen ist ausschließlich eine sinnlich wahrnehmbare Veränderung des Antigens zu konstatieren, bei der Komplementbindungsreaktion war eine solche bisher nicht bekannt und erst durch die vorliegenden Versuche mit Sicherheit erwiesen.

Auf Grund dieser Befunde wird man schwerlich die Ehrlichsche Einteilung in Immunkörper erster, zweiter und dritter Ordnung aufrechterhalten können; vielmehr werden wir durch dieselben zu der von Bail auf Basis grundlegender Versuche ausgesprochenen Anschauung gedrängt, daß zwischen Antigen und Immunkörper nur eine einzige Reaktion besteht, die je nach der verschiedenen Eigenart des Antigens unter verschiedenen Formen, als Agglutination, Präcipitation oder Bakteriolyse, in Erscheinung tritt. Bei allen diesen Reaktionen ist eine mehr oder minder tiefgreifende Veränderung des Antigens wahrnehmbar. Diesen drei Formen wäre noch die Komplementbindungsreaktion anzuschließen, bei der, wie wir gezeigt haben, das Antigen ebenfalls verändert wird. Welcher Art diese Veränderung ist, entzieht sich bis jetzt unserer Kenntnis; sie ist so fein, daß zu ihrer sinnlichen Darstellung der komplizierte Indicator des hämolytischen Systems erforderlich ist.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wird die Wirkungsweise des Komplements beziehungsweise die unter seinem Einflusse entstehenden Veränderungen der reagierenden Substanzen experimentell studiert. Da frühere Untersuchungen von Weil und eigene ergeben haben, daß bei der Komplementbindungsreaktion der Immunkörper qualitativ und quantitativ unversehrt bleibt, so wurde das Schicksal der Extrakte untersucht. Die Versuche ergaben, daß unter dem Einflusse des frischen Meerschweinchenkomplements der Extrakt derart zerstört wird, daß er zu keiner weiteren Reaktion fähig erscheint, während das auf 56° erhitzte Meerschweinchenserum in dieser Hinsicht vollkommen unwirksam ist. Diese Veränderung geht ausschließlich in Anwesenheit des Immunkörpers vor sich. Auf Grund dieser Feststellung wäre die Komplementbindungsreaktion den übrigen Immunitätsreaktionen, der Agglutination, Präcipitation und Bakteriolyse, gleichzu-

stellen, bei denen gleichfalls nur eine sinnlich wahrnehmbare Veränderung des Antigens konstatiert werden kann.

Literatur.

Bail, Versuche über die Einwirkung von Normalserum auf Vibrionen. Folia Serologica 3, 1909.

— Theorie der Serumaktivität. Arch. f. Hygiene 64.

Spät, diese Zeitschr. 28 und 29.

— Folia Serologica 5.

Weil, Arch. f. Hygiene 53.

— und Axamit, Berl. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 53.

— und Spät, diese Zeitschr. 33.

Untersuchungen über die Atmung zerriebener Insekten.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 16. August 1913.)

I.

In Anbetracht des ungemein energischen respiratorischen Gaswechsels der Insekten schien es uns von besonderem Interesse, den allgemeinen Mechanismus der Oxydationen bei diesen Tieren näher zu untersuchen. Soweit uns bekannt ist, ist die Zahl der Arbeiten, die sich mit diesem Gegenstande befaßt haben, ziemlich beschränkt.

Wir können hier nur die Arbeiten von Weinland[1]) anführen, der den Gaswechsel des Puppenbreies von Calliphora, der in Gegenwart oder unter Ausschluß von Sauerstoff 18 bis 24 Stunden hindurch geschüttelt wurde, untersuchte. Unter diesen Versuchsbedingungen lieferten 20 g Puppen 10 bis 22 ccm CO_2 und nahmen 20 bis 32 ccm O_2 auf. In den anoxybiotischen Versuchen ist die Menge der entstandenen Kohlensäure größer und beträgt ungefähr 27 bis 73 ccm in 24 Stunden.

In einer Reihe früherer Arbeiten über den Atmungsmechanismus der Gewebe der Wirbeltiere sind wir zu einigen allgemeinen Schlußfolgerungen gelangt. Wir haben nun in der vorstehenden Arbeit zu entscheiden versucht, ob diese Schlußfolgerungen auch auf die Insekten anwendbar sind.

---

[1]) Weinland, Weitere Beobachtungen an Calliphora. I. Das Verhalten des Petrolätherextrakts im Puppenbrei. Zeitschr. f. Biol. 49, 351, 1907. — Derselbe, Weitere Beobachtungen an Calliphora. II. Über das Verhalten der Kohlenhydrate im Brei der Puppen und Larven. Ibid. 49, 421, 1907.

In allen Geweben der von uns untersuchten Wirbeltiere existiert eine Atmung, die wir als Hauptatmung bezeichnet haben. Diese Atmung ist an die in Wasser unlöslichen Teile der Gewebe gebunden, wird durch Alkohol- oder Acetonbehandlung vernichtet, durch Trypsin zerstört, besitzt ein Temperaturoptimum von 40°, wird durch eine leichte Alkalinität des Mediums energisch gefördert usw. Diese Atmung kann ohne Mitwirkung des Pneins (einer in Wasser löslichen, durch Sieden nicht zerstörbaren Substanz usw.) nicht zustande kommen. Es ist wahrscheinlich, daß in diesem Atmungsprozesse die Oxydone (oder unlösliche oxydierende Katalysatoren) eine Rolle spielen und hauptsächlich ein Oxydon, das ähnliche Eigenschaften besitzt wie das Citricoxydon.

In mehreren Geweben (Leber, Niere usw.) kommt außer der Hauptatmung noch ein anderer Atmungsprozeß vor, den wir als akzessorische Atmung bezeichnet haben. Die Körper, die in diesem Atmungsprozesse wirken, sind in Wasser löslich und werden durch Alkohol- oder Acetonbehandlung sowie durch das Trypsin nicht zerstört. Dieser Atmungsprozeß besitzt ein Temperaturoptimum von 55°, wird durch eine leichte Alkalinität des Mediums nicht merkbar beeinflußt usw. Das Pnein hat keinen Einfluß auf die akzessorische Atmung. Die akzessorische Atmung wird durch Oxydasen bewirkt oder durch in Wasser lösliche oxydierende Katalysatoren; aber bis jetzt ist es noch unbekannt, welcher Art diese Oxydasen sind, d. h. auf welche Substanzen dieselben einwirken.

In der vorliegenden Arbeit haben wir hauptsächlich zu entscheiden gesucht, ob man in dem Insektenbrei ähnliche Prozesse feststellen kann wie die Hauptatmung und die akzessorische Atmung der Wirbeltiere, und welche Rolle diese Prozesse eventuell spielen.

II. Methode.

Allgemeine Methode. Die von uns angewandte Untersuchungsmethode ist dieselbe wie in unseren früheren Untersuchungen über die Atmung der Gewebe der höheren Tiere. Die Insekten werden schnell mit Hilfe einer feinlöcherigen Fleischhackmaschine fein zerrieben. Der Insektenbrei wird mit Wasser versetzt, so daß ein recht flüssiges Gemenge entsteht (z. B. 70 ccm Wasser zu je 30 g Insektenbrei). Das Ganze wird

in eine große Flasche gebracht und energisch geschüttelt. Während der ganzen Versuchsdauer tauchen die Flaschen in das Wasser eines Thermostaten. Am Ende des Versuchs werden die aufgenommene Sauerstoffmenge und die gebildete Kohlensäuremenge nach den üblichen Methoden bestimmt.

Hierbei muß man natürlich die präexistierende und die neugebildete Kohlensäuremenge unterscheiden.

Zu diesem Zwecke werden in einen Kontrollkolben die gleiche Menge Insektenbrei, Wasser usw. gebracht und sofort die nötige Menge Phosphorsäure hinzugesetzt, um einen Säuregrad von 1:100 zu erzielen. Man schüttelt einige Minuten energisch und bestimmt die Kohlensäure auf die gewöhnliche Art.

Die in diesen Versuchen benutzten Insekten sind die gleichen wie in unserer vorangehenden Arbeit, d. h. Fliegen, Maikäfer und Seidenspinner. Die Fliegen sowie die Seidenspinner sind im Larven- und Puppenzustande sowie als ausgewachsene Insekten verwendet worden. Von den Maikäfern standen uns nur die ausgewachsenen Insekten zur Verfügung.

Wir verweisen auf die vorangehende Arbeit in bezug auf den Zustand, in dem sich diese Tiere zur Zeit der Versuche befanden.

III. Intensität des Gaswechsels im Insektenbrei.

Mit Hilfe der von uns soeben angegebenen Methode haben wir die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten untersucht.

Die Intensität des Gaswechsels nimmt in dem Insektenbrei während des Schüttelns in einer Sauerstoffatmosphäre rapid ab. Aus dem Grunde haben wir in unseren Versuchen die Dauer des Schüttelns nur auf eine halbe Stunde beschränkt. Diese Versuche sind unter den zur Erzielung eines möglichst hohen Gaswechsels günstigsten Bedingungen ausgeführt worden: eine Temperatur von 40°, Zusatz von 4:1000 NaCl und 0,5:1000 NH_3, reine Sauerstoffatmosphäre.

In der Tabelle I stellen wir die Durchschnittswerte der Sauerstoffaufnahme und der Kohlensäurebildung zusammen. Ein jeder dieser Werte stellt den Durchschnitt zahlreicher (mindestens 10) Versuche dar.

Tabelle I.

Intensität des Gaswechsels in den Insektenbreisuspensionen. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten bei 40°. Die Flaschen sind mit reinem Sauerstoff gefüllt. Die Suspensionsflüssigkeit besteht aus einer NaCl-Lösung von 4 : 1000. Die Werte beziehen sich auf 100 g Insekten.

Tiere	Aufgenommener O_2 ccm	Neugebildete CO_2 ccm	Respiratorischer Quotient
Fliegenlarven	128	103	0,78
Fliegenpuppen	61	43	0,70
Fliegen	136	101	0,74
Maikäfer	145	117	0,81
Seidenspinnerraupen	48	32	0,67
Seidenspinnerpuppen	53	34	0,64
Seidenspinnerschmetterlinge	78	55	0,71

Die Resultate der Tabelle I zeigen, daß der respiratorische Gaswechsel der zerriebenen Insekten recht hohe Werte erreicht. Bei mehreren Insekten (Maikäfer, Fliegenlarven, Seidenraupen) ist die Intensität des Gaswechsels in vitro fast ebenso groß wie bei den lebenden Insekten, während bei anderen, wie die Fliegen und Schmetterlinge des Seidenspinners, der Gaswechsel in vitro viel niedriger ist als der der lebenden Insekten bei 40°. Wie wir bereits gesagt haben, sinkt der Gaswechsel der zerriebenen Insekten sehr schnell, so daß nur im Anfange des Versuchs (während der ersten Minuten des Schüttelns) die Intensität des Gaswechsels sich der der lebenden Insekten nähert.

Der respiratorische Quotient der zerriebenen Insekten ist annähernd derselbe wie der der zerriebenen Tiere.

Es wäre natürlich von großem Interesse, die Substanzen zu kennen, die bei der Atmung der Insekten unmittelbar oxydiert werden. Wir werden später sehen, daß die Insekten sehr reich an Tyrosinoxydase sind, und daß bei der Oxydation des Tyrosins Kohlensäure entsteht. Es lag somit nahe anzunehmen, daß die Atmung der Insekten zu einem großen Teile in einer Oxydation des in den Geweben enthaltenen oder in denselben entstehenden Tyrosins bestehe. In der Tat beobachtet man in den Geweben aller von uns untersuchten Insekten eine sehr schnelle Schwarzfärbung. Aber quantitative Bestimmungen der Pigmentmenge, die durch 100 ccm Insektenbrei im Laufe einer halben Stunde gebildet wird, haben ergeben, daß diese Pigment-

menge kaum größer ist als die durch Oxydation von 0,02 g Tyrosin entstehende, die zu ihrer Bildung ungefähr 5 bis 6 ccm Sauerstoff erfordert, wobei ungefähr 2 ccm Kohlensäure produziert wird. Die Oxydation des Tyrosins bildet also nur einen äußerst geringen Teil des Gesamtgaswechsels des Insektenbreies.

IV. Einfluß der Temperatur auf die Intensität der Atmung des Insektenbreies.

In einer Reihe von Versuchen wurde der Einfluß der Temperatur auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen, in Wasser suspendierten Insekten untersucht. Die Insektensuspension wird zuerst auf die gewünschte Temperatur erwärmt und darauf die Flasche mit Sauerstoff gefüllt und energisch geschüttelt.

Die hierhergehörigen Versuche sind hauptsächlich mit Fliegenmaden und Maikäfern ausgeführt worden. Die zerriebenen Maikäfer werden in eine Lösung von 0,5 : 1000 NH_3 und 4 : 1000 NaCl gebracht.

In der Tabelle II stellen wir die Resultate einiger typischer Versuchsreihen zusammen.

Tabelle II.

Einfluß der Temperatur auf die Intensität der Atmung des Insektenbreies. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten. Die Werte für O_2 und CO_2 beziehen sich auf 100 g Gewebe. Die übrigen Bedingungen sind die gleichen wie in der vorhergehenden Tabelle.

Tiere	Temperatur in Centigraden °C	Aufgenommener O_2 ccm	Gebildete CO_2 ccm	Respiratorischer Quotient
Fliegenlarven	10	64	41	0,64
"	20	87	62	0,71
"	30	119	88	0,76
"	40	124	92	0,74
"	50	114	85	0,75
"	55	102	67	0,66
Maikäfer	10	68	46	0,68
"	20	107	76	0,71
"	30	148	112	0,76
"	40	150	117	0,78
"	50	145	109	0,75
"	55	137	102	0,74

Die in der Tabelle II angeführten Versuchsergebnisse zeigen, daß der respiratorische Gaswechsel bei niedrigen Temperaturen relativ niedrig ist und daß er mit steigender Temperatur graduell zunimmt. Zwischen 30 und 55° bleibt der Gaswechsel annähernd konstant.

In bezug auf den Einfluß der Temperatur unterscheidet sich die Atmung der Insekten deutlich von der Hauptatmung der höheren Tiere, deren Maximum bei 40° erreicht wird. Bei einer Temperatur von 55° wird die Hauptatmung sehr schwach. Von der akzessorischen Atmung ist die Atmung der Insekten ebenfalls verschieden, da bekanntlich die akzessorische Atmung das Optimum bei 55° aufweist. Bei 20° ist die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Maikäfer und Fliegenlarven bedeutend höher als die der lebenden Insekten.

Gegen höhere Temperaturen weist der Atmungsprozeß der Insekten einen geringeren Widerstand auf als die akzessorische Atmung. So haben wir die Beobachtung gemacht, daß die akzessorische Atmung[1]) durch ein vorheriges 20 Minuten langes Erwärmen der Gewebeemulsion auf 55° nicht abgeschwächt wird. Hingegen bewirkt ein 20 Minuten langes Erwärmen der zerriebenen, in Wasser suspendierten Insekten eine bedeutende Herabsetzung der Atmungsintensität derselben. Auch ist der Gaswechsel der zerriebenen, in Wasser suspendierten Maikäfer bei 50° und namentlich bei 55° niedriger als bei 40°.

Kurz zusammengefaßt, ist der Widerstand des Atmungsprozesses der zerriebenen Insekten gegen die Einwirkung höherer Temperaturen größer als die Widerstandsfähigkeit der Hauptatmung der höheren Wirbeltiere, aber schwächer als die Widerstandsfähigkeit der akzessorischen Atmung.

V. Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten.

Zu den hierhergehörigen Versuchen haben wir Maikäfer und Fliegenlarven verwandt. Die zerriebenen Insekten wurden in Wasser suspendiert und hierauf mit einer verdünnten NaOH- oder HCl-Lösung versetzt, bis die Reaktion gegen Lackmus

[1]) Battelli und Stern, Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben. Diese Zeitschr. 21, 487, 1909.

leicht amphoter war. Darauf fügt man nach und nach unter ständigem Umrühren eine Lösung von NH_3 oder Essigsäure usw. bis zur gewünschten Konzentration hinzu.

Die Fliegenlarven entwickeln NH_3, wie Sosnowski und später Weinland gezeigt haben.

Infolge der fortdauernden Ammoniakbildung verändert sich der Grad der Alkalinität oder der Acidität während der Dauer des Versuchs nicht unbedeutend. Die angeführten Werte der Konzentrationen der Säuren oder Alkalien beziehen sich also nur auf den Anfang des Versuchs.

Bei der Berechnung der Konzentrationen wurde 1 g zerriebener Insekten als gleichwertig mit 1 ccm Wasser betrachtet.

Wir bringen in der Tabelle III einige solcher Versuchstypen.

Tabelle III.

Einfluß der Reaktion des Mediums auf die Intensität der Atmung der zerriebenen Insekten. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten. Die Werte für O_2 und CO_2 beziehen sich auf 100 g Insekten. Die übrigen Bedingungen sind die gleichen wie in der Tabelle I.

Tiere	Reaktion des Mediums	Aufgenommener Sauerstoff ccm	Neugebildete Kohlensäure ccm	Respiratorischer Quotient
Maikäfer	neutral	128	91	0,71
"	NH_3 $^1/_{2000}$	149	99	0,66
"	" $^1/_{1000}$	152	94	0,62
"	" $^2/_{1000}$	136	85	0,62
"	" $^4/_{1000}$	84	45	0,54
"	CH_3CO_2H $^1/_{2000}$	121	89	0,74
"	" $^1/_{1000}$	93	74	0,79
"	" $^2/_{1000}$	34	26	0,76
"	" $^4/_{1000}$	6	4	0,67
Fliegenlarven	neutral	117	86	0,74
"	NH_3 $^1/_{2000}$	119	81	0,68
"	" $^1/_{1000}$	115	63	0,55
"	" $^2/_{1000}$	78	37	0,47
"	" $^4/_{1000}$	49	22	0,45
"	NaOH $^1/_{2000}$	124	87	0,70
"	" $^1/_{1000}$	98	56	0,57
"	" $^2/_{1000}$	37	19	0,51
"	CH_3CO_2H $^1/_{2000}$	114	80	0,70
"	" $^1/_{1000}$	112	79	0,71
"	" $^2/_{1000}$	107	77	0,72
"	" $^4/_{1000}$	21	14	0,67

Aus den in der Tabelle III zusammengestellten Resultaten ersieht man, daß eine leichte Alkalinität den Gaswechsel etwas

begünstigt oder ohne merklichen Einfluß bleibt. Eine etwas stärkere Alkalinität schwächt den respiratorischen Gaswechsel bedeutend ab, wobei die Kohlensäureentwicklung schneller abnimmt als die Sauerstoffaufnahme, so daß der respiratorische Quotient deutlich sinkt.

Die saure Reaktion verursacht eine Verminderung sowohl der Sauerstoffaufnahme als auch der Kohlensäurebildung, so daß der respiratorische Quotient nicht merklich verändert wird.

Vergleicht man nun dieses Resultat mit den an den Geweben der Wirbeltiere beobachteten, so kann man in bezug auf den Einfluß der Reaktion des Mediums folgendes bemerken: Die Atmung der zerriebenen Insekten verhält sich nicht ganz so wie die Hauptatmung der Wirbeltiergewebe, da bei letzteren Zusatz geringer Mengen Alkali eine große Steigerung der Atmungstätigkeit hervorruft. Doch muß bemerkt werden, daß die Gewebe der Wirbeltiere eine ausgesprochene Tendenz haben, schnell sauer zu werden, was bei den zerriebenen Maikäfern nicht der Fall zu sein scheint. Bei den Fliegenlarven bemerkt man, wie wir bereits erwähnt haben, eine reichliche Ammoniakbildung.

Die Atmung der zerriebenen Insekten verhält sich auch nicht ganz so wie die akzessorische Atmung der Gewebe der Wirbeltiere. In der Tat hat eine etwas stärkere Alkalinität (NaOH 2 : 1000 z. B.) keinen merklichen Einfluß auf die Sauerstoffaufnahme in der akzessorischen Atmung, während die Kohlensäurebildung fast gänzlich aufgehoben wird. Bei den zerriebenen Insekten bewirkt, wie wir soeben gesehen haben, eine etwas stärkere Alkalinität eine bedeutende Verminderung auch der Sauerstoffaufnahme, wenn auch in geringerem Maße als die der Kohlensäureproduktion.

Man kann also den Schluß ziehen, daß in bezug auf den Einfluß der Alkalinität die Atmung der zerriebenen Insekten sich mehr der akzessorischen Atmung als der Hauptatmung der Gewebe der Wirbeltiere nähert.

VI. Einfluß der Salzkonzentration, der Phosphate, Lactate, Glucose.

Wir haben den Einfluß der verschiedenen Konzentrationen von NaCl und Natriumdiphosphat auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Maikäfer und Fliegenlarven untersucht.

NaCl in einer Konzentration von 1 bis 9 : 1000 übt keinen merklichen Einfluß aus. Die Atmung findet ebensogut in einer stark hypotonischen Flüssigkeit wie in einer isotonischen Flüssigkeit statt. Sobald die Konzentration des NaCl 1,4:100 erreicht, erleidet der Gaswechsel eine leichte Abschwächung, die mit steigender NaCl-Konzentration zunimmt.

Na_2HPO_4, 10 H_2O in einer Konzentration von 1 bis 10:1000 ist ohne Einfluß oder bewirkt nur eine geringe Steigerung des Gaswechsels. Die Atmung der Insekten verhält sich also dem Dinatriumphosphat gegenüber wie gegen eine leichte Alkalinität des Mediums, d. h. sie wird nur unmerklich beeinflußt. In unseren früheren Untersuchungen haben wir nun die Beobachtung gemacht, daß die Phosphate die Hauptatmung der Gewebe höherer Tiere (Säugetiere, Vögel usw.) sehr stark steigern, während sie auf die akzessorische Atmung keine Wirkung ausüben. In der Hinsicht verhält sich also die Atmung der Insekten wie die akzessorische Atmung der Gewebe der höheren Tiere.

Zusatz von Natriumlactat und von Glucose in verschiedenen Konzentrationen hat keinen Einfluß auf die Atmung der zerriebenen Insekten.

VII. Einfluß der Sauerstoffspannung und der Gegenwart von Blut auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten.

In allen in den vorhergehenden Kapiteln angeführten Versuchen waren die das Reaktionsgemisch enthaltenden Flaschen mit reinem Sauerstoff gefüllt. Ersetzt man den Sauerstoff durch gewöhnliche Luft, so beobachtet man bloß eine geringfügige Abschwächung des Gaswechsels (z. B. um $^1/_{10}$ bis $^1/_5$ oder noch weniger). Die diesbezüglichen Versuche sind an Fliegenlarven und an Maikäfern ausgeführt worden.

Das Blut von Rind, Pferd, Hund usw. oder die gewaschenen Klutkörperchen dieser Tiere bewirken keine oder nur eine geringe Steigerung des Gaswechsels der zerriebenen Insekten.

In dieser Hinsicht verhält sich also die Atmung der zerriebenen Insekten wie die akzessorische Atmung der Gewebe der höheren Tiere und unterscheidet sich deutlich von der Hauptatmung, die durch die Sauerstoffspannung sowie durch die Gegenwart von Blut sehr stark beeinflußt wird.

VIII. Einfluß der Dauer des Schüttelns.

Die Dauer des Schüttelns schwankte in unseren Versuchen zwischen 10 Minuten und 2 Stunden. Die hierbei erzielten Resultate sind sehr verschieden. Im allgemeinen kann man sagen, daß die Intensität des Gaswechsels während der ersten Minuten des Schüttelns größer ist als in den folgenden. In einigen Fällen scheint der Gaswechsel nach 1 Stunde und selbst nach $^1/_2$ Stunde völlig aufgehört zu haben. In anderen Fällen dauert der Gaswechsel ziemlich energisch, wenn auch schwächer als im Anfange, während 2 Stunden und noch mehr. Wir wissen nicht, wodurch diese Unterschiede der Resultate, die man auch in der akzessorischen Atmung der Gewebe der höheren Tiere beobachtet, bewirkt sind.

IX. Einfluß des Pneins auf die Atmung der zerriebenen Insekten. Vorkommen des Pneins bei den Insekten.

Wir haben als Pnein[1]) eine Substanz unbekannter Natur bezeichnet, die die Eigenschaft besitzt, die Hauptatmung der Gewebe zu steigern. Diese Substanz ist hauptsächlich in den Muskeln vertreten. Die Gegenwart des Pneins scheint für die Hauptatmung der Gewebe unentbehrlich zu sein.

Um das Vorhandensein des Pneins in einer Flüssigkeit festzustellen, läßt man die betreffende Flüssigkeit auf die gewaschenen roten Muskeln oder auf die verschiedenen Organe einige Stunden nach dem Tode des Tieres einwirken. Die Niere des Rindes eignet sich besonders gut für diese Untersuchungen. Wir verweisen in bezug auf die Einzelheiten der Methode auf unsere Arbeit über das Pnein.

In einer ersten Reihe von Untersuchungen haben wir das Pnein verschiedener Gewebe (Muskel, Leber, Niere) von Säugetieren zu den zerriebenen Insekten hinzugefügt und haben untersucht, ob der Zusatz von Pnein die Intensität des Gaswechsels beeinflußt. Wir haben in dieser Weise die Fliegenlarven, die Maikäfer und die Seidenraupen untersucht. Die Insekten wurden mehr oder minder schnell nach dem Tode benutzt. Wir haben hierbei die Beobachtung gemacht, daß

[1]) Battelli und Stern, Zur Kenntnis des Pneins. Diese Zeitschr. 33, 315, 1911.

die durch Pneinzusatz bewirkte Steigerung des Gaswechsels der zerriebenen Insekten sehr gering ist (ungefähr $^1/_{10}$ bis $^1/_5$).

Dieses Ergebnis bestätigt die Annahme, daß der Gaswechsel der zerriebenen Insekten nur in geringerem Maße durch einen ähnlichen Mechanismus bewirkt wird, wie die Hauptatmung der höheren Tiere.

In einer zweiten Reihe von Untersuchungen haben wir den Gehalt der verschiedenen Insekten an Pnein bestimmt. In diesen Versuchen haben wir den wässerigen Auszug der Maikäfer, der Fliegenlarven, der Fliegen und der Seidenraupen benutzt. Die zerriebenen Insekten werden mit dem zweifachen Volumen Wasser versetzt und $^1/_2$ Stunde unter wiederholtem Umrühren in Kontakt gelassen und hierauf zentrifugiert. Man erhält auf diese Weise eine trübe Flüssigkeit, die zur Bestimmung des Pneingehalts dient. Wir haben den Auszug ohne weitere Behandlung benutzt, oder aber nach vorherigem Kochen oder nach vorheriger Behandlung mit Essigsäure in einer Konzentration von 1:1000 und darauffolgendem Zentrifugieren. Das Aufkochen sowie die Behandlung mit Essigsäure soll dazu dienen, den Auszug von dem darin event. vorhandenen Antipneumin zu befreien.

Diese verschiedenen Präparate der wässerigen Auszüge der Insekten sind in bezug auf ihren Pneingehalt mit dem wässerigen Auszuge des Rindermuskels verglichen worden, und zwar wurde der Einfluß gleicher Mengen Insekten- sowie Rindermuskelauszüge auf die Intensität des Gaswechsels schnell gewaschener Muskeln von Pferd oder Rind untersucht. Wir haben hierbei die Beobachtung gemacht, daß die wässerigen Auszüge der Insekten Pnein (oder Substanzen, die sich wie das Pnein der Wirbeltiere verhalten) enthalten, doch scheint die Menge desselben bei den Insekten viel geringer zu sein als in den Muskeln des Rindes.

Wir haben gefunden, daß 20 ccm Maikäferauszug, 40 ccm Seidenraupenauszug, 50 ccm Fliegenlarven- oder Fliegenauszug die gleiche Wirkung haben wie 10 ccm Rindermuskelauszug. Wenn man z. B. zu 30 g schnell gewaschene Rindermuskeln + 80 ccm einer 0,5 $^0/_0$ igen Dinatriumphosphatlösung 20 ccm Maikäferauszug hinzusetzt, so erzielt man die gleiche Steigerung des Gaswechsels wie nach Zusatz von 10 ccm Rindermuskelauszug.

Der relativ geringe Gehalt der Insektengewebe an Pnein bestätigt unsere soeben aufgestellte Behauptung, daß bei den Insekten ein der Hauptatmung der höheren Tiere analoger Prozeß existiert, aber daß die Intensität desselben von untergeordneter Bedeutung ist.

X. Einfluß des Trypsins auf die Intensität des Gaswechsels der Insekten.

In früheren Arbeiten[1]) haben wir die Beobachtung gemacht, daß das Trypsin die Eigenschaft besitzt, sowohl die Hauptatmung als auch die Oxydone (Succinicoxydon, Phenylendiaminoxydon usw.) zu hemmen. Die akzessorische Atmung und die Oxydasen (Uricoxydase, Alkoholoxydase, Polyphenoloxydase usw.) hingegen werden nicht beeinflußt.

Das Trypsin gibt uns das beste Mittel an die Hand, um entscheiden zu können, ob die Oxydation einer gegebenen Substanz durch einen in Wasser unlöslichen Katalysator (Oxydon) oder durch einen in Wasser löslichen (Oxydase) bewirkt wird.

Wir haben das Pankreatin Merck auf die Mistkäfer sowie auf die Fliegenlarven einwirken gelassen. Zu je 30 g dieser zerriebenen Insekten fügt man 70 ccm auf 40° erwärmtes Wasser und 0,30 g Pankreatin hinzu. Das Reaktionsgemisch wird 15 Minuten lang bei 40° unter wiederholtem Umrühren in Konstanz gelassen. Eine andere, als Kontrolle dienende Flasche wird ohne Pankreatin gelassen. Die beiden Flaschen werden mit Sauerstoff gefüllt und hernach 30 Minuten lang bei 40° energisch geschüttelt. Der aufgenommene Sauerstoff sowie die neugebildete Kohlensäure werden wie üblich gemessen.

Wir haben nun die Beobachtung gemacht, daß unter diesen Versuchsbedingungen das Pankreatin nur eine geringe Abschwächung ($^1/_8$ bis $^1/_4$) des Atmungsvermögens der zerriebenen Insekten verursacht. Aus diesen Ergebnissen läßt sich der Schluß ziehen, daß die Atmung der zerriebenen Insekten zum weitaus größten Teile durch in Wasser lösliche oxydierende Katalysatoren oder Oxydasen bewirkt wird. Ein der Haupt-

---

[1]) Battelli und Stern, Wirkung des Trypsins auf die verschiedenen Oxydationsvorgänge in den Tiergeweben. Diese Zeitschr. **34**, 263, 1911. — Dieselben, Einfluß verschiedener Faktoren auf die Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Tiergewebe. Diese Zeitschr. **46**, 343, 1912.

atmung der höheren Tiere ähnlicher Prozeß existiert hier wahrscheinlich auch, doch scheint er keineswegs eine große Rolle zu spielen, wie wir es bereits in den vorhergehenden Kapiteln hervorgehoben haben.

XI. Die Atmungsvorgänge in den Alkohol- und Acetonpräparaten der Insekten.

Die hierher gehörigen Untersuchungen sind an den Maikäfern, den Fliegenlarven und den Seidenraupen ausgeführt worden. Die Maikäfer und die Fliegenlarven besitzen nicht die Fähigkeit, Alkohol zu oxydieren, und man kann somit ebensogut Alkohol wie Aceton zu dem Zweck verwenden. Die Seidenraupen hingegen enthalten eine Alkoholoxydase, und deshalb empfiehlt es sich, in dem Falle Aceton zu verwenden.

Diese Präparate sind auf folgende Art dargestellt worden. Die zerriebenen Insekten werden mit dem zweifachen Volumen reinen Alkohols oder Acetons versetzt, 5 Minuten lang geschüttelt und hierauf durch ein Tuch gepreßt. Der Niederschlag wird sodann zwischen Filtrierpapier ausgepreßt und im Vakuum über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur (20° ungefähr) getrocknet. Das Vakuum wurde durch eine Wasserstrahlpumpe hergestellt. Nach 2 Stunden ist das Präparat trocken genug, um zu den Versuchen gebraucht zu werden. Übrigens ist es durchaus nicht notwendig, das Präparat im Vakuum zu trocknen, da die Menge des nach starkem Auspressen zurückbleibenden Alkohols oder Acetons keine Störung der Atmung bewirkt. In der Tat übt Alkohol oder Aceton selbst in einer Gesamtkonzentration von 5 : 100 keinen oder einen nur geringfügigen Einfluß auf die Atmung der Insekten aus.

In der Tabelle IV stellen wir die Resultate einiger typischer Versuche zusammen. Die Alkohol- oder Acetonpräparate werden mit Wasser versetzt (und zwar mit dem 10 fachen Gewichtsvolumen).

Aus den in der Tabelle IV angeführten Resultaten ersieht man, daß die zerriebenen, mit dem mehrfachen Volumen Alkohol oder Aceton behandelten Insekten einen recht energischen Gaswechsel aufweisen. Man kann nicht nur eine Sauerstoffaufnahme, sondern auch eine Kohlensäurebildung feststellen. Wie zu erwarten war, ist dieser Gaswechsel niedriger als der des entsprechenden Gewichts der zerriebenen frischen Insekten.

Tabelle IV.

Gaswechsel der Alkohol- oder Acetonpräparate der Insekten. Die Dauer des Schüttelns beträgt 30 Minuten. Die Werte für O_2 und CO_2 beziehen sich auf 100 g Alkohol- oder Acetonniederschlag. Die übrigen Versuchsbedingungen sind die gleichen wie in der Tabelle I.

Präparate	Aufgenommener Sauerstoff ccm	Neugebildete Kohlensäure ccm	Respiratorischer Quotient
Alkoholniederschlag von Maikäfern	94	47	0,5
Acetonniederschlag von Maikäfern	99	50	0,505
Alkoholniederschlag von Fliegenlarven	68	29	0,426
Acetonniederschlag von Fliegenlarven	77	33	0,428
Acetonniederschlag von Seidenraupen	46	20	0,435

In der Tat entsprechen 100 g Aceton- oder Alkoholniederschlag ungefähr 300 g frischen Insektenbreies. Vergleicht man nun die Werte der Tabelle I mit denen der Tabelle IV, so sieht man, daß durch die Alkohol- oder Acetonbehandlung ungefähr $^2/_3$ bis $^3/_4$ der Atmungstätigkeit vernichtet ist.

Das Persistieren des Gaswechsels nach der Alkoholbehandlung nähert die Atmung der zerriebenen Insekten der akzessorischen Atmung der Gewebe der höheren Tiere. Mit anderen Worten: die akzessorische Atmung der Gewebe der höheren Tiere wird ebenso wie der größte Teil der Atmungstätigkeit der zerriebenen Insekten durch Oxydasen bewirkt. Wir wissen allerdings nicht, welcher Art diese Oxydasen sind und welche Substanzen sie unter Kohlensäureentwicklung oxydieren.

XII. Experimentelle Ergebnisse.

1. Die zerriebenen Insekten weisen einen recht hohen Gaswechsel auf. Bei einigen Insektenformen ist dieser Gaswechsel bei 40° ebenso groß wie der der lebenden Insekten, während er bei anderen Insektenformen (Fliegen, Schmetterlinge des Seidenspinners) bedeutend niedriger ist als in vivo. Bei 20° ist der respiratorische Gaswechsel der zerriebenen Tiere bei manchen Insekten höher als bei den lebenden.

2. Unter den von uns untersuchten zerriebenen Insekten besitzen die Maikäfer, Fliegen und Fliegenlarven den größten Gas-

wechsel. In zweiter Linie folgen die Schmetterlinge des Seidenspinners und die Fliegenpuppen. Den niedrigsten Gaswechsel weisen die Seidenraupen und die Chrysaliden des Seidenspinners auf.

3. Der respiratorische Gaswechsel der zerriebenen Insekten nimmt mit steigender Temperatur bis ungefähr 30° regelmäßig zu und bleibt hernach bis 55° ungefähr unverändert. Ein Temperaturoptimum scheint nicht zu existieren. Vorheriges Erwärmen auf 50° setzt die Atmungstätigkeit der zerriebenen Insekten bedeutend herab.

4. Eine leichte Alkalinität begünstigt etwas den Gaswechsel oder bleibt ohne Einfluß auf die Atmung der zerriebenen Insekten. Eine etwas höhere Alkalinität setzt den Gaswechsel bedeutend herab, namentlich die Kohlensäurebildung. Die saure Reaktion des Mediums setzt den Gaswechsel im allgemeinen, sowohl die Sauerstoffaufnahme wie die Kohlensäurebildung, herab.

5. Der Gaswechsel der zerriebenen Insekten ist ebenso groß in einer hypotonischen wie in einer isotonischen Flüssigkeit.

Zusatz von Dinatriumphosphat hat keinen merklichen Einfluß.

6. Die Intensität des Gaswechsels ist in einer reinen Sauerstoffatmosphäre nicht viel größer als in gewöhnlicher Luft. Ebensowenig wird der Gaswechsel durch Zusatz von Blut (von Säugetieren) beeinflußt.

7. Der Gaswechsel der zerriebenen Insekten dauert häufig längere Zeit mit der gleichen Energie fort. In anderen Fällen hört derselbe bereits nach einer ziemlich kurzen Versuchsdauer auf.

8. Zusatz von Pnein (aus den Geweben der Säugetiere dargestellt) hat keinen merklichen Einfluß auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten.

Die Insekten enthalten viel weniger Pnein als die roten Muskeln der Säugetiere.

9. Das Trypsin bewirkt nur eine sehr schwache Verminderung der Atmungstätigkeit der zerriebenen Insekten.

10. Die Alkohol- und Acetonpräparate der zerriebenen Insekten weisen einen recht hohen respiratorischen Gaswechsel auf.

11. Die Atmung der zerriebenen Insekten scheint zum weitaus größten Teile der Wirkung von Oxydasen von unbekannter Natur zuzuschreiben zu sein.

Intensität des respiratorischen Gaswechsels der Insekten.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 16. August 1913.)

I.

In der vorstehenden Arbeit haben wir die Intensität der Atmung einiger Insekten in vivo untersucht, sowie den Einfluß verschiedener Temperaturen auf den respiratorischen Gaswechsel derselben, hauptsächlich in der Absicht, die hierbei gewonnenen Resultate mit denen unserer Untersuchungen über den Gaswechsel der Insekten in vitro (d. h. der zerriebenen Insekten) einerseits und mit den Untersuchungen über die Oxydationsfermente dieser Insekten andererseits zu vergleichen.

Trotz der großen Anzahl von Arbeiten, betreffend die Atmung der Insekten, gibt es nur wenige systematisch durchgeführte Untersuchungen. Wir werden uns hier damit begnügen, nur diejenigen Arbeiten anzuführen, die zu unseren jetzigen Untersuchungen in engerer Beziehung stehen.

Spallanzani[1]) hat recht zahlreiche Versuche an mehreren Insekten ausgeführt, und zwar sowohl an den Larven, Chrysaliden, wie auch an den völlig ausgebildeten Insekten. Die meisten Versuche betreffen die Seidenspinner, Fliegen, Bienen, Wespen usw. Es ist schwer, aus diesen Untersuchungen untereinander vergleichbare Werte, betreffend die Intensität des Gaswechsels, herauszusuchen, weil die Versuchsbedingungen (Gewicht der Insekten, der Zustand derselben, die Temperatur usw.) nicht genau definiert sind. Oft spielen auch Fäulnisvorgänge mit. Spallanzani macht die Beobachtung, daß die Atmungsintensität der Larven sowie der ausgebildeten Schmetterlinge zwei- bis dreimal größer ist als die der Chrysaliden. Die numerischen Werte von Spallanzani sind kaum verwendbar.

---

[1]) Spallanzani in Senebier, Rapports de l'air avec les êtres organisés. Genève 1807. T. I. Sur la respiration des insectes.

Die bald darauf unternommenen Untersuchungen von Sorg[1]) sind von Treviranus einer strengen Kritik unterzogen worden in bezug auf die angewandten Methoden der Gasbestimmung.

Viel eingehender und genauer sind die Untersuchungen von Treviranus[2]) über den Gaswechsel verschiedener Tiere, unter anderem auch der Insekten. Er zeigt, daß die Kohlensäurebildung durch die Temperatur sowie durch die Bewegungen des Tieres, die mit steigender Temperatur zunehmen, beeinflußt wird. Treviranus hat den respiratorischen Gaswechsel bei den Hymenopteren, Dipteren, Lepidopteren, Orthopteren und Coleopteren untersucht. Vergleicht man untereinander die Werte von Treviranus, auf 1 kg und 1 Stunde berechnet, so sieht man, daß die Atmungsintensität der Insekten je nach der Gattung zwischen 1 und 10 schwanken kann. So hat z. B. Melolontha horticola bei einer Temperatur von 13 bis 15° 330 ccm O_2 aufgenommen, während die Sauerstoffaufnahme bei Papilio atalanta 5400 ccm betrug. Die Sauerstoffaufnahme der Bienen betrug bei einer Temperatur von 11,5° 2619 ccm und bei 22° 5375 ccm.

Newport[3]) hat die Kohlensäureausscheidung der Insekten in den verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht. Er findet ebenfalls, daß die Chrysaliden von Sphinx, Papilio usw. bedeutend schwächer atmen als die Larven oder die ausgebildeten Insekten. Er findet ganz enorme Unterschiede zwischen den verschiedenen Insekten. So beträgt z. B. die Kohlensäurebildung bei Meloe violaceus (pro Kilogramm und Stunde) 19 ccm und bei Bombus terrestris 7343 ccm. Es muß bemerkt werden, daß in der Mehrzahl der Versuche von Newport die Bestimmung der entwickelten Kohlensäure an einem einzigen Individuum ausgeführt wurde.

In der klassischen Arbeit von Regnault und Reiset[4]) über die Atmung der verschiedenen Tiere finden sich auch Untersuchungen über den Gaswechsel der Maikäfer und der Seidenspinner. Doch fehlt jede Angabe über die Temperatur, bei der die Versuche ausgeführt wurden. In diesen Versuchen betrug bei den Maikäfern (pro Kilogramm und Stunde) die Sauerstoffaufnahme 673 bis 753 ccm und die Kohlensäurebildung 553 bis 580 ccm. Die Seidenspinner nahmen unmittelbar vor ihrer Verpuppung 481 bis 588 ccm O_2 auf, während die Chrysaliden bloß 169 ccm O_2 aufnahmen und 107 ccm CO_2 entwickelten. In den Versuchen von Regnault und Reiset war der respiratorische Quotient im Durchschnitt 0,80.

---

[1]) Sorg, Disquisitio physiologica circa respirationem Insectorum et Vermium. Rudolstadt 1805.

[2]) Treviranus, Versuche über das Atemholen der niederen Tiere. Zeitschr. f. Physiol. 4, 1, 1831.

[3]) Newport, On the respiration of insects. Philosophical transactions of the Royal Soc. of London 1, 529, 1836.

[4]) Regnault et Reiset, Recherches chimiques sur la respiration des animaux des diverses classes. Annales de Chimie et de Physique 26, 299, 1849.

Die Untersuchungen der neueren Forscher sind systematischer und beziehen sich gewöhnlich auf eine einzige Gattung oder beschäftigen sich mit dem Einfluß eines bestimmten Faktors (Temperatur usw.).

Bütschli[1]) hat den Einfluß der Temperatur auf den Gaswechsel der mit verschiedenen Substanzen ernährten Blatta orientalis untersucht. Die Steigerung der Temperatur bewirkt ein regelmäßiges Ansteigen des Gaswechsels. Bei 15° ist der Gaswechsel doppelt so hoch wie bei 4°, und bei 32° ist er 17 mal stärker als bei 3°. Bei einer Temperatur von 32 bis 35° erhielt Bütschli pro 1 kg und 1 Stunde 324 bis 1014 ccm CO_2. Der respiratorische Quotient nimmt bei den niedrigeren Temperaturen ab. Die Resultate von Bütschli sind von Vernon[2]) bestätigt worden, doch sind die von letzterem erzielten Werte höher als die von Bütschli angegebenen.

Der respiratorische Gaswechsel der Seidenspinner ist Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Unter diesen sind die vollständigsten die von Luciani und Piutti[3]), von Luciani und Lo Monaco[4]), sowie die von Farkas[5]). Luciani und Piutti untersuchten die Atmung der Eier des Seidenspinners. Im Winter entwickeln dieselben (pro Kilogramm und Stunde) 3,5 ccm CO_2. Zur Zeit des Auskriechens der Larven kann die Kohlensäurebildung bis auf 912 ccm ansteigen. Bei 10° entwickeln die Eier 3 mal soviel CO_2 wie bei 0°. Der respiratorische Quotient nähert sich während des Inkubationsstadiums der Einheit. Diese Untersuchungen sind von Luciani und Lo Monaco wieder aufgenommen worden. Sie fanden beim Seidenspinner eine Verminderung der Kohlensäurebildung jedesmal, wenn er in Schlaf versinkt, und eine Steigerung der Kohlensäureproduktion beim Erwachen. Aus den von diesen Forschern mitgeteilten Werten läßt sich berechnen, daß die Seidenspinner pro Kilogramm und Stunde 378 ccm CO_2 bei Zimmertemperatur entwickeln. Luciani und Lo Monaco haben sich nicht speziell mit dem Einfluß der Temperatur auf den Gaswechsel befaßt. Farkas hat den respiratorischen Gaswechsel der Eier sowie der Larven der Seidenspinner einige Tage nach dem Auskriechen untersucht. Das Maximum des Gaswechsels beobachtet man im Augenblick des Ausschlüpfens der Larven, darauf folgt eine allmähliche Verminderung. Im Augenblick des Aus-

---

[1]) Bütschli, Ein Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels, insbesondere der Respiration bei den Insekten. Arch. f. Physiol. 1874, 348.

[2]) Vernon, The relation of the respiratory exchange of cold-blooded animals to temperature. Journ. of Physiol. 21, 443, 1897.

[3]) Luciani et Piutti, Sur les phénomènes respiratoires des œufs du bombyx du mûrier. Arch. ital. de Biol. 9, 319, 1888.

[4]) Luciani et Lo Monaco, Sur les phénomènes respiratoires de la chrysalide du bombyx du mûrier. Arch. ital. de Biol. 19, 274, 1893.

[5]) Farkas, Beiträge zur Energetik der Ontogenese. III. — Über den Energieumsatz des Seidenspinners während der Entwicklung im Ei und während der Metamorphose. Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 490, 1903.

schlüpfens beträgt die Kohlensäurebildung pro Kilogramm und Stunde 248 ccm, nach einigen Tagen sinkt dieselbe auf 121 ccm herab.

Der Gaswechsel der Larven und Chrysaliden der Fliegen ist von Sosnowski[1]) untersucht worden. Bei den ausgewachsenen Larven fand er eine Kohlensäurebildung von 600 bis 700 ccm pro Kilogramm und Stunde. Sosnowski erwähnt nicht, bei welcher Temperatur diese Versuche ausgeführt wurden. Diese Kohlensäurebildung nimmt in dem Maße, wie die Larve sich dem Chrysalidenstadium nähert, ab. Bei den Puppen sinkt die Kohlensäurebildung allmählich auf $^1/_3$ bis $^1/_4$ und steigt hernach wieder an.

Weinland[2]) hat ebenfalls den Gaswechsel bei den Puppen von Calliphora vomitoria studiert. Er fand pro Kilogramm und Stunde eine Sauerstoffaufnahme von 230 ccm und eine Kohlensäurebildung von 150 ccm. Der respiratorische Quotient betrug im Durchschnitt 0,714.

Parhon[3]) hat in zahlreichen Untersuchungen den Einfluß der Temperatur auf den Gaswechsel der Bienen in den verschiedenen Jahreszeiten studiert. Er fand, daß der Gaswechsel im Sommer mit steigender Temperatur von 10 bis 37° beständig abnimmt, hingegen aber von 40 bis 45° leicht ansteigt. Parhon schließt aus dieser Beobachtung, daß die Bienen einen wärmeregulierenden Mechanismus besitzen müssen. Im Herbst und im Winter wird im Gegenteil der Gaswechsel bei 10° sehr schwach. Während des Sommers fand Parhon bei den Bienen pro Kilogramm und Stunde bei 0° eine Sauerstoffaufnahme von 11300 ccm; bei 10° betrug die Sauerstoffaufnahme 21600 ccm, bei 20° 17300 ccm, bei 32° 11700 ccm und bei 35° 5500 ccm. Bei den Fliegen findet Parhon hingegen, daß der Gaswechsel mit steigender Temperatur regelmäßig zunimmt. Bei einer Temperatur von 5° entwickelten die Fliegen pro Kilogramm und Stunde 1400 ccm CO_2, bei 20° 5700 ccm, bei 32° 8544 ccm und bei 35° 13500 ccm CO_2.

Slowtzoff[4]) hat ebenfalls den Einfluß der Temperatur auf den Gaswechsel der Insekten, hauptsächlich der Ameisen und Mistkäfer, untersucht. Er findet, daß der Gaswechsel mit steigender Temperatur zunimmt, daß aber ein Intervall von 12° existiert, während dessen der Gaswechsel konstant bleibt. Dieses Intervall liegt zwischen 12 und 24° ungefähr für die Mistkäfer und zwischen 20 und 34° ungefähr für die Ameisen. Bei den Mistkäfern beträgt die Kohlensäurebildung pro Kilo-

---

[1]) Sosnowski, Contribution à l'étude de la physiologie du développement des mouches. Bull. intern. de l'Acad. des Sciences de Cracovie. Classe des Sciences mathém. et natur. 1902, 568.

[2]) Weinland, Über die Stoffumsetzungen während der Meta morphose der Fleischfliege (Calliphora vomitoria). Zeitschr. f. Biol. 47, 186, 1905.

[3]) Parhon, Les échanges nutritifs chez les abeilles pendant les quatre saisons. Ann. des Sc. natur. Zool. 9, 1, 1909.

[4]) Slowtzoff, Über den Gaswechsel der Insekten und dessen Beziehung zur Temperatur der Luft. Diese Zeitschr. 19, 497, 1909.

gramm und Stunde 304 ccm bei 10°, 481 ccm bei 27° und 758 ccm bei 44°. Bei den Ameisen sind die entsprechenden Werte 50 ccm, 446 ccm und 892 ccm. Der respiratorische Quotient beträgt bei dem Mistkäfer im Durchschnitt 0,80 und bei der Ameise 0,90.

Wir wollen hier nur noch einige Untersuchungen von v. Brücke[1]) und von v. Linden[2]) über den Gaswechsel einiger Lepidopteren erwähnen. v. Brücke beobachtet, daß bei der Segelfalterpuppe die Kohlensäurebildung mit steigender Temperatur zunimmt. v. Linden findet, daß bei den Chrysaliden mehrerer Schmetterlinge der respiratorische Quotient während der Nacht 0,76 beträgt und während des Tages bloß 0,66.

In einer großen Anzahl von Untersuchungen ist der Einfluß der Temperatur auf den Gaswechsel und andere physiologische Vorgänge der Wirbeltiere und der Wirbellosen studiert worden. Es liegt nicht in unserer Absicht, auf dieselben hier näher einzugehen.

Abegg[3]) macht darauf aufmerksam, daß die von Schulz[4]) am Frosche erzielten Resultate der van't Hoffschen Regel folgen, d. h. daß die Reaktionsgeschwindigkeit für je 10° Temperaturerhöhung sich verdoppelt oder verdreifacht. Dies drückt man durch die Formel $Q_{10} = 2$ bis 3 usw. aus. Diese Regel hat, wie bekannt, in einer großen Anzahl physiologischer Vorgänge sowohl im Pflanzen- wie auch im Tierreiche Bestätigung gefunden.

II. Methode.

Die von uns benutzte Methode ist sehr einfach. Die zu untersuchenden Insekten werden in eine breite, in einem Thermostaten befindliche Flasche von einem Rauminhalt von 700 ccm gebracht. Der Boden der Flasche wird mit einer dicken Schicht Kleie bedeckt, so daß die Insekten mit den Wänden des Gefäßes nicht in Berührung kommen. Unterläßt man diese Vorsichtsmaßregel, so sterben die Insekten nach 3 bis 5 Minuten, wenn die Temperatur 45 oder 50° erreicht.

---

[1]) v. Brücke, Der Gaswechsel der Schmetterlingspuppen. Arch. f. Physiol. **1909**, 204.

[2]) v. Linden, Die Assimilationstätigkeit bei Schmetterlingspuppen. Leipzig 1912.

[3]) Abegg, Noch ein Beitrag zum Temperatureinfluß auf Lebensprozesse. Zeitschr. f. Elektrochemie **11**, 820, 1905.

[4]) Schulz, Über das Abhängigkeitsverhältnis zwischen Stoffwechsel und Körpertemperatur bei den Amphibien. Arch. f. d. ges. Physiol. **14**, 78, 1877.

In der Mehrzahl unserer Versuche betrug das Gewicht der Insekten 30 g. Die Dauer des Versuches schwankt je nach der Temperatur. Bei einer Temperatur von 45° oder von 50° betrug die Dauer des Aufenthaltes im Thermostaten 15 oder nur 10 Minuten, weil die Tiere bei diesen Temperaturen geschädigt werden, und ungeachtet der den Boden der Flasche bedeckenden Kleieschicht stirbt ein Teil der Tiere ziemlich bald. Beträgt die Temperatur 30 oder 40°, so läßt man die Insekten 1 Stunde im Thermostaten, aber die Luft wird jede Viertelstunde erneuert, nachdem zuvor der Gaswechsel während der letzten Viertelstunde bestimmt wurde. Bei Temperaturen von 20° ab wurde der Gaswechsel nach Ablauf einer Stunde bestimmt.

Die Maikäfer gelangten ungefähr 24 Stunden nach dem Einsammeln zur Untersuchung.

Die Seidenspinnerraupen wurden nach dem letzten Schlafe, 2 bis 3 Tage vor dem Einspinnen, verwandt. Die Chrysaliden der Seidenspinner gelangten ungefähr 15 Tage nach dem Einspinnen zur Untersuchung, und die Schmetterlinge 48 Stunden nach dem Ausschlüpfen.

Von den Fliegen haben wir die Fleischfliege, Musca vomitoria, untersucht. Die zu den Versuchen benutzten Larven waren gut entwickelt und fähig, sich im Laufe von 24 bis 48 Stunden zu verpuppen. Die Puppen wurden größtenteils 5 bis 8 Tage nach ihrer Bildung verwandt. Die Fliegen wurden im Laufe von 24 Stunden nach dem Ausschlüpfen, ohne Nahrung erhalten zu haben, benutzt.

Die Versuche mit den Maikäfern sind im Monat Mai, mit den Seidenspinnern in den Monaten Juni und Juli, und mit den Fliegen hauptsächlich in den Monaten September und Oktober ausgeführt.

III. Intensität des Gaswechsels der Insekten bei verschiedenen Temperaturen.

Unter den früher angeführten Versuchsbedingungen haben wir folgende Resultate erhalten, die wir in der nachstehenden Tabelle zusammstellen. Die angegebenen Werte sind Durchschnittswerte von mindestens 5 Versuchen, die an verschiedenen Individuen ausgeführt worden sind.

Tabelle I.

Sauerstoffaufnahme und Kohlensäurebildung bei den verschiedenen Insekten bei verschiedenen Temperaturen. Die Werte beziehen sich auf 1 kg und 1 Std.

Insekten	Temperatur °C	Aufgenommener O_2 ccm	Entwickelte CO_2 ccm	Respiratorischer Quotient
Maikäfer	20	930	610	0,65
"	30	1620	1120	0,69
"	40	3030	2190	0,72
"	45	4400	3200	0,73
"	50	4250	3500	0,82
Seidenspinnerraupe	20	680	620	0,91
"	30	840	780	0,93
"	40	1100	950	0,86
Seidenspinnerchrysalide	20	130	85	0,65
"	30	260	175	0,67
"	40	360	240	0,66
Seidenspinnerschmetterling	20	1400	900	0,64
"	30	2700	1800	0,67
"	40	6200	4280	0,69
Fliegenlarven	20	1300	1050	0,81
"	30	2040	1650	0,81
"	40	3900	3280	0,84
"	45	4900	4160	0,85
"	50	5200	4520	0,87
"	55	4600	4050	0,88
Fliegenchrysaliden	10	170	90	0,52
"	20	260	170	0,65
"	30	480	320	0,67
"	40	710	510	0,72
"	45	990	740	0,75
Fliegen	10	960	590	0,61
"	20	3100	2300	0,74
"	30	5800	4400	0,76
"	40	9600	7500	0,78
"	45	14700	11100	0,76
"	50	12900	9700	0,75

Aus den in dieser Tabelle zusammengestellten Resultaten ersieht man, daß der Gaswechsel bei allen von uns untersuchten Insekten mit zunehmender Temperatur ständig ansteigt. Eine Erhöhung der Temperatur von 20° auf 40° bewirkte eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme um das 3fache bei den Maikäfern, 1,6fache bei den Seidenraupen, 2,7fache bei den Chrysaliden, 4,4fache bei den Schmetterlingen des Seidenspinners, 3fache bei den Fliegenlarven, 2,7fache bei den Chrysaliden und 3fache bei den Fliegen. Wir sehen also, daß bei den meisten der von uns untersuchten Insekten eine Steigerung

der umgebenden Temperatur von 20° auf 40° die Sauerstoffaufnahme um das 3fache vergrößerte. Die Steigerung des Gaswechsels unter dem Einflusse der Temperatur ist in unseren Versuchen bedeutender als die von Slowtzoff bei der Ameise und dem Mistkäfer beobachtete. Unsere Resultate stimmen in dieser Hinsicht mit den von Parhon bei der Fliege gefundenen gut überein.

Es muß bemerkt werden, daß in unseren Versuchen bloß die äußere Temperatur bekannt war, und daß wir nicht wissen, ob die innere Temperatur der Insekten die gleiche war. Es muß außerdem in Betracht gezogen werden, daß, wie bereits Treviranus bemerkt hat, mit steigender Temperatur die Bewegungen der Insekten mehr und mehr lebhaft werden, so daß es unmöglich ist, zu entscheiden, in welchem Maße die Steigerung des Gaswechsels durch den Einfluß der Temperatur oder durch die Muskelbewegungen bewirkt wird. Infolgedessen dürfen die in der Tabelle angeführten Werte nur als summarische Resultate aufgefaßt werden und nicht als Ausdruck des Einflusses der Temperatur allein. Allerdings verhalten sich die Chrysaliden in derselben Weise wie die Larven und die in ihren Bewegungen völlig freien Insekten, aber auch die Chrysaliden können im Innern der Hülle Muskelbewegungen ausführen.

Der respiratorische Quotient ist bei niedrigeren Temperaturen niedriger als bei höheren Temperaturen, wie bereits frühere Forscher beobachtet haben.

In bezug auf die Atmungsintensität bemerkt man sowohl bei der Fliege wie bei dem Seidenspinner, daß die ausgewachsenen Insekten einen viel höheren Gaswechsel aufweisen als die Larven dieser Insekten. Der Unterschied macht sich bei höheren Temperaturen bemerkbarer. Andererseits ist der Gaswechsel der Larven viel höher als der der Chrysaliden, wie es bereits von allen anderen Forschern beobachtet worden ist.

Vergleichen wir nun die verschiedenen Gattungen, so sehen wir, daß den höchsten Gaswechsel die Fliegen aufweisen. Die Schmetterlinge des Seidenspinners besitzen einen lebhafteren Gaswechsel als die Maikäfer. Nach den Angaben von Slowtzoff ist der Gaswechsel bei den Ameisen bedeutend geringer. Die Kohlensäureausscheidung beträgt bei diesen Insekten pro Kilo-

gramm und Stunde 446 ccm bei einer Temperatur von 27° und 892 ccm bei 44°. Es wäre wünschenswert, diese Versuche zu wiederholen, und zwar unter gleichen Versuchsbedingungen. Nach den Angaben von Parhon weisen die Bienen einen lebhafteren Gaswechsel auf als die Fliegen.

Vergleicht man den Gaswechsel der Insekten mit dem der Homeothermen, so beobachtet man, daß die Intensität der Atmung der ersteren größer sein kann selbst als die der sehr kleinen Vögel. So ist nach Lapicque[1]) der Gaswechsel des Bengali bei 18° ungefähr 30 mal größer als der des Menschen. Die Sauerstoffaufnahme würde hiernach ungefähr 10000 ccm pro Kilogramm und Stunde betragen. Wir haben aber gesehen, daß bei der Fliege die Sauerstoffaufnahme pro Kilogramm und Stunde bei 45° ungefähr 15000 ccm betragen kann, und nach Parhon beträgt die Sauerstoffaufnahme bei der Biene im Sommer bei einer Temperatur von 10° 21000 ccm pro Kilogramm und Stunde.

Wir verzichten auf allgemeine Betrachtungen, die in keinem direkten Zusammenhange zu unseren Untersuchungen stehen.

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **70**, 375, 1911.

Die Tyrosinoxydase, die Polyphenoloxydase und die Oxydone bei den Insekten.

Von

F. Battelli und L. Stern.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 16. August 1913.)

I.

Der Hauptzweck dieser Arbeit ist die oxydierende Wirkung der verschiedenen Insekten auf verschiedene Substanzen zu untersuchen und diese Oxydationswirkung mit der Intensität des Gaswechsels der lebenden Insekten einerseits und der zerriebenen Insekten andererseits zu vergleichen.

In vor kurzem erschienenen Arbeiten[1]) haben wir die oxydierenden Katalysatoren in Oxydasen und Oxydone getrennt. Die Oxydone unterscheiden sich von den Oxydasen hauptsächlich dadurch, daß sie in Wasser unlöslich sind, durch Alkohol- oder Acetonbehandlung vernichtet werden, durch eine Temperatur von 60° zerstört und durch Trypsin schnell angegriffen werden, was uns zur Annahme veranlaßte, daß die Oxydone aus unlöslichen Proteinkörpern bestehen. Wir haben die Oxydone in zwei Gruppen eingeteilt: die stabilen und die labilen Oxydone. Die stabilen Oxydone, die wiederholtem Auswaschen mit Wasser widerstehen, umfassen bis jetzt das Succinicoxydon, das die Bernsteinsäure zu Apfelsäure oxydiert, und das Phenylendiaminoxydon, das die Oxydation des p-Phenylendiamins (oder einer Mischung von p-Phenylendiamin-α-Naphthol) beschleunigt. Zu den labilen Oxydonen, die durch Waschen mit

---

[1]) Battelli und Stern, Einfluß der Anaesthetica auf die Oxydone. Diese Zeitschr. 52, 226, 1913. — Dieselben, Einfluß der Aldehyde auf die Oxydone. Diese Zeitschr. 52, 253, 1913.

Wasser vernichtet werden, gehört das Citricoxydon, das die Verbrennung der Citronen-, Apfel- und Fumarsäure bewirkt.

Unter den am besten untersuchten Oxydasen sind die Polyphenoloxydase, die Tyrosinoxydase, die Alkoholoxydase und die Uricoxydase zu rechnen. Über den Umfang der durch die Polyphenoloxydase und die Tyrosinoxydase möglichen Reaktionen herrscht noch eine gewisse Unsicherheit.

Nach Bertrand[1]) oxydiert die Laccase (Polyphenoloxydase) hauptsächlich die Polyphenole und die Aminoderivate derselben, während die Monophenole und aromatischen Amine kaum angegriffen werden. Chodat und Staub[2]) haben die Beobachtung gemacht, daß die Tyrosinoxydase auch die Kresole, hauptsächlich das p-Kresol oxydiert. Bach und Maryanowitsch[3]) finden, daß die von Tyrosinoxydase völlig freie Laccase (Polyphenoloxydase) auch die Monophenole oxydiert. Es könnte somit angenommen werden, daß gewisse Monophenole, wie z. B. die Kresole, sowohl durch die Tyrosinoxydase wie durch die Polyphenoloxydase oxydiert werden können. Wir werden die Oxydation des p-Kresols in dem Kapitel über die Tyrosinoxydase studieren, ohne hierdurch behaupten zu wollen, daß das p-Kresol hauptsächlich durch die Tyrosinoxydase oxydiert wird.

II. Methoden.

Die allgemeine Methode ist die gleiche wie in unseren früheren Untersuchungen. Die zerriebenen Insekten werden mit Wasser versetzt, so daß ein recht flüssiges Gemenge entsteht (100 ccm Wasser für je 30 g Insektenbrei z. B.). Das Ganze wird in eine größere Flasche gebracht und in Gegenwart von Sauerstoff energisch geschüttelt. Am Ende des Versuchs wird die aufgenommene Sauerstoffmenge sowie die neugebildete Kohlensäure bestimmt. Ist die Sauerstoffaufnahme in dem die zu oxydierende Substanz enthaltenden Reaktionsgemisch energischer als in der Kontrollprobe, so kann man im allgemeinen annehmen, daß die hinzugesetzte Substanz oxydiert worden ist. Die Intensität dieser Oxydation wird durch die Steigerung der Sauerstoffaufnahme gemessen.

---

[1]) Bertrand, Sur les rapports qui existent entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase. Compt. rend. 122, 1132, 1896.

[2]) Chodat et Staub, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Arch. des scienc. phys. et nat. 24, 172, 1907.

[3]) Bach und Maryanowitsch, Zur Kenntnis der Spezifitätserscheinungen bei der Phenolasewirkung. Diese Zeitschr. 42, 417, 1912.

Um den Reaktionsverlauf verfolgen zu können, wird jede Flasche mit einem als Eudiometer funktionierenden Manometer in Verbindung gebracht, das seinerseits mit einem Registrierapparat verbunden werden kann. In dem Falle wird die entstehende Kohlensäure durch NaOH-Stäbe, die in einem in die Flasche hängenden Körbchen sich befinden, absorbiert (siehe diese Einrichtung in Battelli und Stern, Methoden zur Bestimmung der Atmung tierischer Gewebe. Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden von E. Abderhalden 3, 463, 1910).

Mehrere Faktoren beeinflussen die Oxydation der verschiedenen von uns untersuchten Substanzen durch die Insekten. Wir haben die günstigsten Bedingungen gewählt, um das Maximum der Oxydation zu erzielen.

Die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs hängt natürlich von der Dauer des Versuchs ab. Im allgemeinen ist die Intensität der Oxydation während der ersten Minuten größer als in den folgenden. In der Mehrzahl unserer Versuche betrug die Dauer des Schüttelns 25 Minuten.

Die Temperatur des Wasserthermostaten, in dem die das Reaktionsgemisch enthaltenden Flaschen sich befanden, betrug 38 bis 40°. Die Flaschen waren mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Die Konzentration der zu oxydierenden Substanz war durch Vorversuche bestimmt worden, um das Maximum der Oxydationswirkung zu erzielen.

Die Insekten wurden sofort nach dem Zerreiben benutzt.

III. Relativer Polyphenoloxydasegehalt bei den verschiedenen Insekten.

Die Untersuchungen über die Polyphenoloxydasen bei den Insekten sind sehr begrenzt.

Biedermann[1]) machte die Beobachtung, daß der wässerige Auszug hungernder Mehlwürmer (Tenebris molitor) Guajac energisch zu bläuen vermag. Portier[2]) findet, daß das Blut der Insekten (Ephyppium und Carabus) eine Polyphenoloxydase enthält, die hauptsächlich sehr leicht nachgewiesen werden kann, wenn das Blut längere Zeit der Luft aus-

---

[1]) Biedermann, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 205, 1898.

[2]) Portier, Les oxydases dans la série animale. Leur rôle physiologique. Thèse de Paris 1877.

gesetzt worden war. v. Fürth und Schneider[1]) haben die Beobachtung gemacht, daß die Hämolymphe der Chrysaliden verschiedener Insektenarten und hauptsächlich von Deiliphila elpenor und Euphorbiae nicht nur eine Tyrosin oxydase, sondern auch eine Polyphenoloxydase enthält, die verschiedene Pelyphenole, wie z. B. Brenzkatechin, Hydrochinon usw., oxydiert.

Quantitative Untersuchungen über den Gehalt der Insekten an Polyphenoloxydasen sind unseres Wissens bisher nicht unternommen worden.

Die Reagenzien der Polyphenoloxydasen sind bekanntlich sehr zahlreich. Wir haben in der Mehrzahl unserer Versuche Pyrogallol, Hydrochinon und p-Phenylendiamin benutzt. Die beiden ersten Reagenzien sind von zahlreichen Forschern in den verschiedenen Untersuchungen über die Polyphenoloxydasen benutzt worden.

Die Verwendung des p-Phenylendiamins erscheint angezeigt aus dem Grunde, da die Gewebe der Wirbeltiere, die auf die Mehrzahl der Polyphenoloxydasereagenzien (Hydrochinon, Pyrogallol, Phenolphthalein usw.) keine oxydierende Wirkung ausüben, diese Substanz hingegen sehr energisch oxydieren[2]).

Bekanntlich findet bei der Oxydation des Hydrochinons und des p-Phenylendiamins keine Kohlensäurebildung statt. Bei der Oxydation des Pyrogallols entsteht Kohlensäure, deren Menge je nach den Versuchen wechselt und zwischen ungefähr $^1/_4$ und $^1/_2$ der aufgenommenen Sauerstoffmenge schwanken kann.

In den hier angeführten Versuchen wurden die zu oxydierenden Substanzen zu dem Insektenbrei nach vorherigem Neutralisieren oder leichtem Ansäuern hinzugesetzt. Diese Vorsichtsmaßregel ist vor allem notwendig, wenn es sich um Fliegenlarven handelt, deren Emulsion oft stark alkalisch reagiert infolge der bedeutenden NH_3-Mengen, die die Larven produzieren, wie es bereits von Weinland beobachtet wurde.

Diese verschiedenen Substanzen sind in einer Konzentration von 1:100 verwandt worden.

In der Tabelle I stellen wir die Durchschnittswerte, betreffend die Intensität der Oxydation dieser verschiedenen Insekten zusammen, gemessen durch die Steigerung der Sauer-

---

[1]) v. Fürth und Schneider, Über tierische Tyrosinasen und ihre Beziehungen zur Pigmentbildung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 131, 1907.

[2]) Battelli und Stern, Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Tiergewebe. Diese Zeitschr. 46, 317, 1912.

stoffaufnahme. Jede Zahl entspricht einem Durchschnittswerte von mindesten 5 Versuchen.

Tabelle I.

Durchschnittswerte der durch die Oxydation des Pyrogallols, Hydrochinons oder p-Phenylendiamins unter dem Einflusse von 100 g zerriebener Insekten bewirkten Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Die hier angeführten Werte bezeichnen die Anzahl der Kubikzentimeter Sauerstoff bei 0° und 760 mm Druck berechnet. In allen Versuchen betrug die Dauer des Schüttelns 25 Minuten, die Temperatur des Thermostaten 39°. Die Flaschen waren mit reinem Sauerstoff gefüllt.

Insekten	Die zu oxydierende Substanz	Steigerung der Sauerstoff-aufnahme ccm
Maikäfer	Pyrogallol	190
"	Hydrochinon	180
"	p-Phenylendiamin	60
Fliegenlarven	Pyrogallol	560
"	Hydrochinon	480
"	p-Phenylendiamin	110
Fliegenpuppen	Pyrogallol	270
"	Hydrochinon	190
"	p-Phenylendiamin	140
Fliegen	Pyrogallol	140
"	Hydrochinon	110
Seidenspinner-Raupen	Pyrogallol	40
" "	Hydrochinon	45
" "	p-Phenylendiamin	20
" -Chrysaliden	Pyrogallol	110
" "	Hydrochinon	120
" "	p-Phenylendiamin	25
" -Schmetterlinge	Pyrogallol	40
" "	Hydrochinon	35
Hämolymphe der Seidenspinner-Chrysaliden	Hydrochinon	90

Die Resultate der Tabelle I zeigen deutlich, daß die verschiedenen Insekten sehr verschiedene Oxydationsfähigkeiten gegenüber den Polyphenolen aufweisen. Die an Polyphenoloxydase reichsten sind die Fliegenlarven und die am wenigsten wirksamen sind die Schmetterlinge des Seidenspinners.

Von besonderem Interesse ist die Beobachtung, daß die ausgebildeten Insekten weniger Polyphenoloxydase besitzen als die Larven oder die Chrysaliden. So ist z. B. die Oxydationswirkung auf Hydrochinon bei der Fliege ungefähr 5 mal schwächer

als bei der Larve. Bei dem Schmetterlinge des Seidenspinners ist diese Oxydationsintensität ungefähr 3mal kleiner als bei der Chrysalide.

Die Hämolymphe der Chrysaliden des Seidenspinners oxydiert Hydrochinon ebenso energisch wie der ganze Körper dieses Insektes. Man kann also annehmen, daß die Polyphenoloxydase gleichmäßig in der Hämolymphe und den Geweben der Chrysaliden verteilt ist.

Die Oxydation des p-Phenylendiamins ist viel schwächer als die des Hydrochinons oder des Pyrogallols. Das Gegenteil beobachtet man bei den Wirbeltieren. Alle Gewebe der Wirbeltiere besitzen die Fähigkeit, p-Phenylendiamin zu oxydieren, und einige Gewebe, wie die roten Muskeln, das Gehirn, die Leber usw., oxydieren p-Phenylendiamin mit sehr großer Energie. Diese Gewebe haben hingegen nicht die geringste Fähigkeit, die Oxydation der verschiedenen Polyphenole und speziell des Hydrochinons und des Pyrogallols merklich zu beschleunigen. Wir haben bereits erwähnt, daß die Oxydation des p-Phenylendiamins durch die Gewebe der Wirbeltiere einem Oxydon, dem Phenylendiaminoxydon, zugeschrieben werden muß und nicht einer Oxydase. Bei den Insekten wird die Oxydation des p-Phenylendiamins wahrscheinlich zum großen Teile durch eine Polyphenoloxydase bewirkt. Immerhin kann nicht ausgeschlossen werden, daß diese Oxydation teilweise auch durch ein Oxydon, das in relativ geringer Menge existieren würde, zustande gebracht wird.

Vergleicht man den Polyphenoloxydasegehalt der verschiedenen Insekten mit der Intensität des Gaswechsels dieser Insekten in vivo (siehe Tabelle in unserer ersten Mitteilung), so fällt sofort auf, daß zwischen diesen beiden Vorgängen keinerlei Parallelismus zu verzeichnen ist. So ist der Gaswechsel bei der Fliege 2 bis 3mal höher als bei den Fliegenlarven, während umgekehrt, wie wir es eben gesehen haben, ihr Polyphenoloxydasegehalt ungefähr 5mal geringer ist. Dieselbe Beobachtung läßt sich auch bei den Raupen und den Schmetterlingen des Seidenspinners machen. Desgleichen besitzen die Schmetterlinge des Seidenspinners einen 2mal stärkeren Gaswechsel als die Maikäfer, während sie hingegen Hydrochinon ungefähr 5mal schwächer oxydieren.

IV. Der Tyrosinoxydasegehalt der verschiedenen Insekten.

Die Untersuchungen über die Tyrosinoxydase der Insekten sind verhältnismäßig zahlreich, doch fehlen bisher gänzlich auch nur annähernd quantitative Bestimmungen dieses Fermentes.

Die ersten Untersuchungen beziehen sich auf die Verfärbung der der Luft ausgesetzten Hämolymphe der Insekten sowie auf das Dunkelwerden des Breies zerriebener Insekten.

Fréderioq[1]) hat die Beobachtung gemacht, daß das der Luft ausgesetzte Blut der Insekten unter Sauerstoffaufnahme braun wird. Nach Fréderioq entsteht die oxydable Substanz wahrscheinlich während der Gerinnung als Zersetzungsprodukt einer anderen Substanz. Er hatte darauf hingewiesen, daß das Braunwerden des Insektenblutes bei Luftzutritt nicht als ein ähnlicher Vorgang wie die Bildung von Oxyhämoglobin aus Hämoglobin aufgefaßt werden darf, weil der aufgenommene Sauerstoff nicht mehr entzogen werden kann.

Krukenberg[2]) hat auch die Bedingungen zu bestimmen gesucht, unter denen die Insektenlymphe schwarz wird, und hat die Chromogene, die unter dem Einflusse von Fermenten in Farbstoffe verwandelt werden, bei den Ascidien und verschiedenen Coleopteren eingehend studiert. Die Fermente hingegen hat er nicht näher untersucht.

v. Fürth und Schneider[3]) untersuchten das Schwarzwerden der Hämolymphe der Insektenpuppen, namentlich von Deiliphila elpenor und Euphorbiae. In der Hämolymphe entsteht allmählich ein Bodensatz schwarzer Plättchen. Die Hämolymphe vermag auch zugesetztes Tyrosin, namentlich bei leicht alkalischer Reaktion, zu oxydieren. Doch kann man nicht mit Sicherheit behaupten, daß die spontane Verfärbung der Hämolymphe an der Luft durch die Einwirkung der Tyrosinoxydase bedingt sei, da einerseits das Chromogen nicht aus Tyrosin besteht und andererseits die Hämolymphe auch die Polyphenole oxydieren kann.

Nach v. Fürth und Schneider ist die Tyrosinoxydase der Hämolymphe sehr unbeständig, da die Oxydation des Tyrosins bei 30° schnell aufhört.

Nach Weinland[4]) wird das Blut der Larven von Calliphora an der Luft nicht braun, aber nach Zusatz von Pepton tritt eine grauschwarze Färbung auf.

---

[1]) Fréderioq, Sur le sang des insectes. Bull. de l'Acad. Roy. de Belgique 1 (3), 487, 1881.

[2]) Krukenberg, Über Hydrophiluslymphe. Verhdl. d. naturw. med. Vers. Heidelberg 3, 79, 1881. — Derselbe, Grundzüge einer vergleichenden Physiologie der Farbstoffe und der Farben. Vergleichend-physiol. Vorträge 1, 92, 1886.

[3]) v. Fürth und Schneider, l. c.

[4]) Weinland, Über das Verhalten von Blut und Gewebe der Calliphora. Zeitschr. f. Biol. 52, 468, 1909.

Zahlreicher sind die Untersuchungen an den Insektengeweben. Biedermann[1]) findet, daß eine Emulsion des Darmes des Mehlwurms (Tenebrio molitor) an der Luft schwarz wird und zugesetztes Tyrosin in Gegenwart von Sauerstoff dunkel färbt.

Dewitz hat in zahlreichen Untersuchungen das Schwarzwerden der Fliegen und das diese Schwarzfärbung bedingende oxydierende Ferment studiert. In seinen ersten Versuchen[2]) zeigt er, daß der Brei der reifen Larven von Lucilia caesar sehr schnell schwarz wird, und daß der Brei der Larven von Musca vomitoria zuerst rot und dann schwarz wird. Es sind dies die in Wasser löslichen Teile, die sich färben, während die gewaschenen festen Teile sich nicht färben. Gegenwart von Sauerstoff ist notwendig. Das Licht hat keinen Einfluß. Vorheriges Erwärmen auf 70° während 45 Minuten verhindert dieses Schwarzwerden, das Dewitz der Einwirkung eines oxydierenden Ferments zuschreibt. Er untersuchte außerdem den Einfluß der Säuren und Alkalien sowie einiger Gifte. Er findet, daß die sehr jungen Larven sich nicht färben, und schließt hieraus, daß das Ferment während des Larvenstadiums entsteht und zunimmt. Die Ernährungsweise spielt ebenfalls eine Rolle; der Brei gut genährter Larven weist eine schwächere Färbung auf, wie es auch von Weinland[3]) beobachtet wurde. Dewitz findet einen sehr engen Zusammenhang zwischen der Färbung der Puppen und dem Hartwerden oder der Chitinisierung der Haut. Seiner Ansicht nach muß selbst die Metamorphose sowie die Bildung der Flügel der Einwirkung einer Oxydase zugeschrieben werden.

In einer späteren Arbeit bemerkt Dewitz[4]), daß die Oxydase in den Larven bis zur Verpuppung zunimmt und hierauf wieder abnimmt. Der Brei der Fliegen bleibt farblos. Er hält es nicht für wahrscheinlich, daß die Verminderung der Färbung in dem Brei der Puppen und das völlige Verschwinden derselben in dem Brei der Fliegen einer Verminderung des Chromogens zuzuschreiben sei.

In diesen sehr eingehenden Untersuchungen findet man keine quantitativen Angaben. Dewitz macht nicht den Versuch, den Brei der Larven, Puppen usw. auf oxydable Substanzen, wie z. B. das Tyrosin, einwirken zu lassen.

Gessard[5]) wiederholt die Versuche von Dewitz und findet, daß

---

[1]) Biedermann, l. c.

[2]) Dewitz, Untersuchungen über die Verwandlung der Insektenlarven. Arch. f. d. ges. Physiol. **1902**, 327. — Ders., Weitere Mitteilungen zu meinen Untersuchungen über die Verwandlung der Insektenlarven. Ibid. **1902**, 425.

[3]) Weinland, Über die Periodizität der Fettbildungsprozesse im Larvenbrei. Zeitschr. f. Biol. **52**, 444, 1909.

[4]) Dewitz, Untersuchungen über die Verwandlung der Insektenlarven. Arch. f. d. ges. Physiol. **1905**, Supplement, S. 389.

[5]) Gessard, Sur la tyrosinase de la mouche dorée. Compt. rend. **139**, 644, 1904.

die Tyrosinoxydase in der Larve der Goldfliege sehr frühzeitig nachgewiesen werden kann, und zwar früher als das Tyrosin, das erst etwas später nachgewiesen werden kann. Bloß die Puppenhülle ist gefärbt, die Puppe selbst ist farblos. Im Augenblicke des Ausschlüpfens ist die Fliege farblos, färbt sich aber sehr bald an der Luft und nimmt den charakteristischen metallischen Goldglanz an.

Phisalix[1]) machte ähnliche Beobachtungen an Phyllodromia germanica. Die aus dem Ei schlüpfende Larve ist weiß, nimmt aber im Laufe von 3 Stunden eine graue, dann braune und endlich schwarze Farbe an unter dem Einflusse der Tyrosinoxydase bei der Berührung mit der Luft. Die Tyrosinoxydase sowie das Tyrosin können schon sehr frühzeitig im Embryo nachgewiesen werden.

Roques[2]) findet, daß in der Lymphe und im Fettkörper der Larve von Limnophilus flavicornis die Tyrosinoxydase während des ganzen Larvenstadiums in großer Menge vorhanden ist, bei Beginn des Puppenstadiums aber sehr schnell abnimmt. Im Laufe des Puppenstadiums nimmt die Tyrosinoxydase von neuem zu, und zwar fällt diese Zunahme mit den Pigmentationsvorgängen zusammen. In den letzten Stunden des Puppenstadiums nimmt die Tyrosinoxydase von neuem ab und scheint gänzlich bei dem ausgewachsenen Insekt zu fehlen.

Gortner[3]) findet die Tyrosinoxydase auch in der Haut der Larve von Tenebrio molitor und außerdem bei mehreren Myriapoden und anderen Insekten. Nach Gortner[4]) ist die Pigmentierung der Cicaden der Oxydation eines in Wasser löslichen Aminophenols durch die Tyrosinoxydase zuzuschreiben. Die Tyrosinoxydase befindet sich an der Oberfläche und bewirkt durch Oxydation des Chromogens die Bildung des Häutchens.

Es würde uns zu weit führen, an dieser Stelle die sehr zahlreichen Untersuchungen über die Konstitution und den Ursprung des Pigments bei den Insekten zu diskutieren. Einige Forscher, wie v. Linden[5]), schreiben dem Pigment respiratorische Funktionen im Organismus zu, was aber wenig wahrscheinlich ist, wie wir sehen werden.

In den hierhergehörigen Versuchen haben wir dieselbe Methode benutzt wie in den im vorigen Kapitel erwähnten Versuchen.

---

[1]) Phisalix, Sur le changement de coloration des larves de Phyllodromia germanica. Compt. rend. Soc. Biol. 57, 17, 1905.

[2]) Roques, Sur la variation d'une enzyme oxydante pendant la métamorphose chez un trichoptère. Compt. rend. 149, 418, 1909.

[3]) Gortner, A contribution to the study of the oxydases. Journ. of the chem. Soc. London 98, 110, 1910. — Idem, The origin of the brown pigment in the integuments of the larva of Tenebrio molitor. Journ. of Biolog. Chem. 7, 365, 1910.

[4]) Gortner, Studies on melanin. The pigmentation of the adult periodical cicada. Journ. of Biolog. Chem. 10, 89, 1911.

[5]) v. Linden, Morphologische und physiologische Untersuchungen über die Pigmente der Lepidopteren. Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 1, 1903.

Bei der Oxydation des p-Kresols entsteht in manchen Fällen etwas Kohlensäure, in anderen Fällen ist die Kohlensäurebildung unmerklich. Jedenfalls ist die entstehende Kohlensäuremenge so unbedeutend im Vergleich zur Sauerstoffaufnahme, daß man sie völlig vernachlässigen und die Steigerung der Sauerstoffaufnahme direkt bestimmen kann.

Anders verhält es sich bei der Oxydation des Tyrosins. In allen Fällen findet eine Kohlensäurebildung statt. Dieses Resultat steht im Widerspruch zu den Angaben von Foà[1]), der bei Benutzung der Tyrosinoxydase von Russula delica keine Spur von Kohlensäure fand. Wir haben das Tyrosin durch verschiedene Pilze oxydiert (Russula delica, Lactarius vellereus, Russula foetens u. a.) und in allen Fällen das gleiche Resultat erhalten, d. h. eine beträchtliche Kohlensäurebildung. In all diesen Versuchen betrug das der Oxydation des Tyrosins entsprechende Verhältnis $CO_2 : O_2$ 0,35.

Die Bildung von Kohlensäure bei der Oxydation des Tyrosins war, soweit uns bekannt, bisher nicht nachgewiesen worden.

In unseren Versuchen haben wir das p-Kresol und das Tyrosin in einer Konzentration von 0,5 : 100 benutzt.

In der Tabelle II stellen wir die Durchschnittswerte der Intensität der Oxydation dieser beiden Substanzen, gemessen durch die Steigerung der Sauerstoffaufnahme, zusammen. Jede Zahl entspricht einem Durchschnittswert von mindestens 5 Versuchen.

Wenn wir die auf die Oxydation des Tyrosins sich beziehenden Werte in Betracht ziehen, so beobachten wir, daß die Fliegenlarven eine äußerst große Menge Tyrosinoxydase aufweisen. Dieses Ferment nimmt während des Puppenstadiums bedeutend ab, weist aber noch immer hohe Werte auf. Bei der Fliege nimmt die Menge dieses Ferments noch weiter ab, ohne aber ganz zu verschwinden, im Gegensatz zu den Angaben von Dewitz. Vielleicht erklärt sich dieser Widerspruch durch die Tatsache, daß wir in unseren Versuchen Fliegen benutzten, die erst seit 24 bis 48 Stunden ausgeschlüpft waren.

Bei den Seidenspinnern besitzen die Raupen weniger Tyrosinoxydase als die Chrysaliden, die Schmetterlinge nehmen eine Zwischenstellung ein.

---

[1]) Foà, Eine Methode graphischer Registrierung einiger Gärungsvorgänge. Diese Zeitschr. 11, 382, 1908.

Tabelle II.

Durchschnittswerte der durch Oxydation des Tyrosins resp. des p-Kresols unter dem Einflusse von 100 g zerriebener Insekten bewirkten Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Die Versuchsbedingungen sind die gleichen wie in der Tabelle I.

Insekten	Oxydable Substanz	Steigerung der O_2-Aufnahme ccm
Maikäfer	Tyrosin	75
"	p-Kresol	170
Fliegenlarven	Tyrosin	1250
"	p-Kresol	900
Fliegenchrysaliden	Tyrosin	750
"	p-Kresol	500
Fliegen	Tyrosin	130
"	p-Kresol	120
Seidenspinnerraupen	Tyrosin	70
"	p-Kresol	65
Seidenspinnerchrysaliden	Tyrosin	190
"	p-Kresol	150
Seidenspinnerschmetterlinge	Tyrosin	120
"	p-Kresol	110
Hämolymphe der Seidenspinner-chrysaliden	Tyrosin	180
"	p-Kresol	170

Die Maikäfer enthalten weniger Tyrosinoxydase als die Fliegen und die Seidenspinnerschmetterlinge.

Die Hämolymphe der Chrysaliden des Seidenspinners oxydiert das Tyrosin fast ebenso energiseh wie der ganze Körper. Man muß also annehmen, daß die Tyrosinoxydase gleichmäßig in der Lymphe und den Geweben der Chrysalide verteilt ist.

Die durch die Oxydation des p-Kresols bewirkte Sauerstoffaufnahme ist im allgemeinen annähernd die gleiche wie bei der Oxydation des Tyrosins. Immerhin ist beim Maikäfer die Oxydation des p-Kresols bedeutend stärker als die des Tyrosins; hingegen ist bei den Fliegenlarven die Oxydation des p-Kresols weniger ausgeprägt als die Oxydation des Tyrosins.

Wie wir bereits gesagt haben, ist es schwer zu entscheiden, ob die Oxydation des p-Kresols ausschließlich durch die Tyrosinoxydase bewirkt wird, oder ob die Polyphenoloxydase hierbei auch eine aktive Rolle spielt.

Vergleicht man die Resultate der Tabelle II mit denen der Tabelle I, so findet man, daß zwischen der Intensität der Oxydation des Hydrochinons oder des Pyrogallos ein gewisser

Parallelismus existiert. Die verschiedenen Formen der Insekten, die einen größeren Tyrosinoxydasegehalt aufweisen, sind auch reicher an Polyphenoloxydase. So besitzen z. B. die Fliegenlarven mehr Tyrosinoxydase und Polyphenoloxydase als die Fliegenchrysaliden, und die Chrysaliden der Seidenspinner mehr Tyrosinoxydase und Polyphenoloxydase als die Raupen und die Schmetterlinge des Seidenspinners. Die Maikäfer jedoch besitzen mehr Polyphenoloxydase als die Seidenspinnerchrysaliden, aber viel weniger Tyrosinoxydase.

Vergleicht man nun den Polyphenoloxydasegehalt der verschiedenen Insekten mit der Intensität des Gaswechsels derselben in vivo, so findet man zwischen diesen Vorgängen keinen Parallelismus. In der Beziehung können wir das von uns im vorigen Kapitel Gesagte nur wiederholen.

V. Darstellung der Oxydasen der Insekten.

Die Polyphenoloxydase und die Tyrosinoxydase können leicht in Pulverform nach vorherigem Behandeln mit Alkohol oder Aceton nach den üblichen Methoden dargestellt werden.

Als Ausgangsmaterial haben wir die Maikäfer und hauptsächlich die Fliegenlarven benutzt, die, wie wir gesehen haben, den größten Tyrosinoxydase- und Polyphenoloxydasegehalt aufweisen.

Die Insekten werden zerrieben, mit dem dreifachen Volumen Alkohol oder Aceton versetzt, 10 Minuten lang geschüttelt und durch ein Leinwandtuch ausgepreßt. Der Niederschlag wird im Vakuum bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure getrocknet.

Man erhält auf diese Weise ein braunes Pulver, das sowohl die Polyphenole als auch das Tyrosin oxydiert.

20 g auf diese Weise dargestellten Pulvers von Maikäfern können unter den früher beschriebenen Versuchsbedingungen im Laufe einer halben Stunde 30 ccm O_2 zur Oxydation von Tyrosin und ungefähr 70 ccm O_2 zur Oxydation von Pyrogallol aufnehmen. 20 g Pulver von Fliegenlarven nehmen zur Oxydation von Tyrosin ungefähr 100 ccm O_2 auf, und zur Oxydation von Pyrogallol ungefähr 130 ccm O_2. Die Tyrosinoxydase der Fliegenlarven scheint somit gegen Alkohol- oder Acetonbehandlung weniger widerstandsfähig zu sein als die Polyphenoloxydase.

Diese Alkohol- oder Acetonpräparate oxydieren ebenso energisch p-Phenylendiamin, wodurch bewiesen wird, daß die Oxydation dieser Substanz durch den frischen Insektenbrei, wenigstens zum großen Teile, durch die Polyphenoloxydase bedingt wird.

VI. Die Alkoholoxydase und die Uricoxydase bei den Insekten.

Bei keinem einzigen der von uns untersuchten Insekten haben wir eine merkliche Oxydation von Harnsäure konstatieren können.

Alkoholzusatz bewirkt nur bei der Seidenspinnerraupe eine merkliche Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Diese Steigerung beträgt für 100 g Raupen im Laufe einer Stunde bei 40° 25 bis 30 ccm O_2. Es sind dies ungefähr dieselben Werte, die man bei der Oxydation des Alkohols durch die Leber von Rind oder Hammel erzielt. Wir haben keine näheren Untersuchungen über die Alkoholoxydase der Seidenraupen angestellt.

VII. Die Oxydone (Succinicoxydon und Citricoxydon) bei den Insekten.

Wir haben in den Kapiteln IV und V gesehen, daß die Oxydation des p-Phenylendiamins zum großen Teile durch die Polyphenoloxydase bewirkt wird. Es läßt sich schwer sagen, ob die Insekten auch ein Phenylendiaminoxydon besitzen.

Zusatz von Bernsteinsäure bewirkt eine deutliche, wenn auch keine sehr große Steigerung der Sauerstoffaufnahme. Wir haben die folgenden Resultate erzielt.

100 g zerriebener Insekten, mit einer 2%igen Lösung bernsteinsauren Natriums 30 Minuten lang in einer Sauerstoffatmosphäre bei 40° energisch geschüttelt, weisen folgende Steigerung der Sauerstoffaufnahme auf:

Maikäfer	40 ccm
Fliegenlarven	35 „
Fliegen	80 „
Seidenspinnerraupen	15 „
Seidenspinnerschmetterlinge	40 „

Die Oxydation der Bernsteinsäure ist bekanntlich von keiner Kohlensäureproduktion begleitet.

Wir sehen, daß bei der Mehrzahl der Insekten die Oxydation der Bernsteinsäure viel schwächer ist als die Oxydation des Pyrogallos oder des Tyrosins. Man braucht nur die soeben angeführten Resultate mit denen der Tabellen I und II zu vergleichen. Die Intensität der Oxydation der Bernsteinsäure nähert sich ziemlich der Oxydationsintensität des p-Phenylendiamins.

Vergleicht man die Intensität der Oxydation der Bernsteinsäure durch die Insekten mit der Intensität der Oxydation der Bernsteinsäure durch die Gewebe der Wirbeltiere, so sieht man, daß die roten Muskeln, die Leber usw. der Wirbeltiere ein bedeutend größeres Oxydationsvermögen besitzen als die Insekten. So können z. B. 100 g Rindermuskel unter den soeben angeführten Versuchsbedingungen zur Oxydation der Bernsteinsäure 125 ccm Sauerstoff aufnehmen.

Es existiert ein ziemlich enger Parallelismus zwischen der Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch den Brei der verschiedenen Insekten und der Intensität des Gaswechsels beim lebenden Insekt. So besitzen z. B. die Fliegen, die den höchsten Gaswechsel aufweisen, auch die größte Oxydationswirkung gegenüber der Bernsteinsäure, und andererseits üben die Seidenraupen, die den schwächsten Gaswechsel besitzen, auch die geringste oxydierende Wirkung auf die Bernsteinsäure aus. Man muß immerhin bemerken, daß zwischen der Größe der Bernsteinsäureoxydation und der Sauerstoffaufnahme durch die lebenden Insekten ein enormer Unterschied besteht.

Hingegen existiert nicht der geringste Parallelismus zwischen der Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten und der Intensität der Bernsteinsäureoxydation.

Da der die Oxydation der Bernsteinsäure beschleunigende Katalysator ein Oxydon ist, so ist es nicht möglich, denselben durch Behandeln mit Alkohol oder Aceton in Pulverform darzustellen, da bekanntlich diese Substanzen die Oxydone vernichten. . . . .

Wir haben keine merkliche Oxydation der Citronensäure durch die verschiedenen Insekten beobachten können. Natürlich genügt das negative Resultat nicht, um die Existenz des Citricoxydons auszuschließen. Man könnte vielmehr annehmen, daß das Citricoxydon durch die verschiedenen Manipulationen,

die zur Bereitung des Insektenbreies notwendig sind, vernichtet werde.

Zusatz von Natriumlactat und Natriumacetat sowie von Glucose bleibt ohne Einfluß auf die Intensität des Gaswechsels des Breies der verschiedenen Insekten. Übrigens haben diese Substanzen auch auf den Gaswechsel der Gewebe der Wirbeltiere keine Wirkung.

VIII. Allgemeine Betrachtungen.

Mechanismus der Atmung der Insekten. Auf Grund der verschiedenen im Laufe dieser Arbeiten auseinandergesetzten Resultate sind wir zum Schlusse gelangt, daß bei den zerriebenen Insekten der respiratorische Gaswechsel zum größten Teil auf die Wirkung von Oxydasen, d. h. in Wasser löslichen oxydierenden Fermenten zurückzuführen ist. Die Atmung der zerriebenen Insekten weist eine große Analogie mit der akzessorischen Atmung der Wirbeltiergewebe auf. Sie kann als **oxydasische Atmung** bezeichnet werden.

Aber sowohl in der akzessorischen Atmung der Wirbeltiergewebe als auch in der Atmung der zerriebenen Insekten ist die Natur der hier mitwirkenden Oxydasen unbekannt, d. h. man weiß nicht, auf welche Substanzen diese Fermente einwirken. Und wir wissen ebensowenig, ob es dieselben Oxydasen sind, die in der akzessorischen Atmung und in der Atmung der Insekten mitwirken.

Neben der Oxydasenatmung ist es nicht unmöglich, daß der Gaswechsel der zerriebenen Insekten auch teilweise den Oxydonen zuzuschreiben sei. Doch scheint jedenfalls die Teilnahme der Oxydone an dem Gaswechsel im Vergleich zu der Rolle der Oxydasen eine sehr geringe.

Der Mechanismus des Gaswechsels der zerriebenen Insekten ist also von dem Mechanismus der Hauptatmung der Wirbeltiergewebe verschieden. In einigen dieser Gewebe, wie z. B. die Muskeln, fehlt die akzessorische Atmung sozusagen vollkommen; in diesen Geweben wird die ganze Atmungstätigkeit wahrscheinlich durch die Wirkung der Oxydone bedingt. Wir würden es hier mit einer oxydonischen Atmung zu tun haben. In allen Geweben (Leber, Niere, Gehirn usw.) bildet die Hauptatmung den wichtigsten Teil des Gaswechsels.

Man kann behaupten, daß bei den zerriebenen Insekten die Atmung vorzugsweise oxydasischer Natur ist, während dieselbe in den Geweben der Wirbeltiere hauptsächlich oxydonischer Natur ist.

Auf Grund dieser Versuche in vitro kann man die Annahme machen, daß auch in den lebenden Insekten der Gaswechsel durch Oxydasen bewirkt wird und daß die Oxydone hierin nur eine untergeordnete Rolle spielen. Immerhin muß bemerkt werden, daß es sehr labile Oxydone gibt, die sehr schnell nach dem Tode des Tieres verschwinden, wie es für das Citricoxydon des Gehirns, der Niere und der Leber mehrerer Säugetiere der Fall ist. Es wäre also möglich, daß es auch bei den Insekten sehr labyle Oxydone gibt, die im lebenden Organismus eine sehr wichtige Rolle spielen, deren Existenz aber in den zerriebenen Insekten nachzuweisen unmöglich ist.

Rolle der bekannten oxydierenden Fermente bei den Insekten. Wir haben gesehen, daß alle von uns untersuchten Insekten in allen Entwicklungsstadien Polyphenoloxydase und Tyrosinoxydase besitzen und daß einige Entwicklungsformen, wie die Larven der Fliegen, außerordentlich große Mengen dieser Fermente enthalten. Eine augenscheinliche Rolle dieser Oxydasen ist die Bildung der Pigmente. Es scheint nach unseren Untersuchungen, daß je größer die Menge des zu bildenden Pigments ist, desto größer auch der Gehalt der Insekten an Tyrosinoxydase oder der Polyphenoloxydase ist. So sind z. B. die Fliegenlarven, die eine sehr dunkle Puppenhülle und ein stark pigmentiertes Insekt liefern, außerordentlich reich an diesen beiden Fermenten. Die Seidenspinnerraupe, die eine wenig pigmentierte Chrysalide bildet, besitzt relativ geringe Mengen dieser Fermente, während hingegen in der Chrysalide, die den stark pigmentierten Schmetterling liefert, die Menge dieser beiden Fermente zunimmt.

Man muß sich aber die Frage vorlegen, ob außer der Pigmentbildung die Polyphenoloxydase und die Tyrosinoxydase eine wichtige Rolle in dem Mechanismus der Atmung der Insekten spielen. Diese Hypothese ist ziemlich unwahrscheinlich, denn bei der Spezifizität dieser Fermente müßte man annehmen, daß im Organismus fortwährend Phenole oder entsprechende Amine

oder Tyrosin entstehen, was nicht sehr wahrscheinlich ist. Außerdem steht die Hypothese, daß diese beiden Fermente eine wichtige Rolle in dem Mechanismus der Atmung spielen, im Widerspruch zu der Tatsache, daß sie bei dem ausgebildeten Insekt bedeutend abnehmen, während hingegen der Gaswechsel die größte Intensität aufweist. So ist z. B. bei der Fliege der Gaswechsel 2 bis 3 mal größer als bei der Larve, während die Menge der Polyphenoloxydase und der Tyrosinoxydase 5 bis 6 mal kleiner ist.

Man wird in unserer Arbeit über die Oxydationsfermente (Ergebnisse der Physiologie **12**, 263, 1912) die verschiedenen Hypothesen finden, die über die Rolle der Oxydasen im allgemeinen und namentlich der Polyphenoloxydase in den organischen Verbrennungen bei den Tieren und Pflanzen aufgestellt worden sind. Wir waren zur Schlußfolgerung gelangt, daß die bisher bekannten Oxydasen schwerlich eine wirkungsvolle Rolle im Gaswechsel der lebenden Organismen spielen können.

In bezug auf die Insekten muß man ebenfalls annehmen, daß die Polyphenoloxydase und die Tyrosinoxydase im Gaswechsel der lebenden Insekten keine merkliche allgemeine Rolle spielen, daß sie vielmehr eine spezielle Funktion haben, und zwar hauptsächlich die Pigmente zu bilden. Die Pigmentbildung unter dem Einflusse der Tyrosinoxydase ist augenscheinlich. Aber auch die Polyphenoloxydase kann bei der Pigmentbildung mitwirken. Bertrand und Bourquelot haben in ihrer ersten Untersuchung gezeigt, daß in der Pflanzenwelt die Farbstoffe ebensogut durch die Tyrosinoxydase wie durch die Polyphenoloxydase gebildet werden können. Für die Insekten haben v. Fürth und Schneider gezeigt, daß das Chromogen des Lepidopterenblutes nicht aus Tyrosin besteht, sondern aus einer aromatischen Substanz, die durch die Polyphenoloxydase oxydiert werden kann.

In bezug auf die Hypothesen, die zur Erklärung des Umstandes aufgestellt werden können, daß die Insekten in gewissen Stadien ihrer Entwicklung trotz des Vorhandenseins von Oxydasen und Chromogenen farblos bleiben, verweisen wir auf unsere Arbeit über die Oxydationsfermente (Ergebnisse der Physiologie **12**, 261, 1912).

Experimentelle Ergebnisse.

1. Alle von uns untersuchten Insekten (Maikäfer, Fliegen, Seidenspinner in den verschiedenen Entwicklungsstadien) enthalten bedeutende Mengen Polyphenoloxydase und Tyrosinoxydase.

2. Die an Polyphenoloxydase reichsten Insekten sind die Fliegenlarven. In absteigender Reihenfolge folgen die Fliegenchrysaliden, die Maikäfer, die Fliegen, die Chrysalyden, Raupen und Schmetterlinge der Seidenspinner.

Die ausgebildeten Insekten enthalten im allgemeinen weniger Polyphenoloxydase als die entsprechenden Larven und Chrysaliden.

Die Hämolymphe der Seidenspinnerpuppen enthält fast ebensoviel Polyphenoloxydase wie der ganze Körper.

3. Im Gegensatz zu den Geweben der Wirbeltiere oxydieren die zerriebenen Insekten p-Phenylendiamin weniger energisch als Hydrochinon und Pyrogallol.

4. Es fehlt jeder Parallelismus zwischen dem Gehalte der verschiedenen Insekten an Polyphenoloxydase und der Intensität des Gaswechsels derselben lebenden Insekten.

5. Die an Tyrosinoxydase reichsten Insekten sind die Fliegenlarven, die eine ungemein große Oxydationswirkung gegenüber Tyrosin und p-Kresol besitzen. In absteigender Reihenfolge folgen die Chrysaliden der Fliegen und der Seidenspinner, die Fliegen, die Schmetterlinge des Seidenspinners, die Maikäfer und die Seidenraupen.

Die Hämolymphe der Seidenchrysaliden oxydiert Tyrosin fast ebenso energisch wie der ganze Körper.

6. Im allgemeinen sind die verschiedenen Insektenformen, die den größten Polyphenoloxydasegehalt aufweisen, auch die an Tyrosinoxydase reichsten.

7. Die Polyphenoloxydase und die Tyrosinoxydase der Insekten können leicht in Pulverform durch Behandeln des Insektenbreies mit Alkohol oder Aceton dargestellt werden.

8. Die Oxydation des Tyrosins durch die Tyrosinoxydase ist von einer Kohlensäureentwicklung begleitet. Das Verhältnis zwischen dem Volumen der entwickelten Kohlensäure und dem Volumen des aufgenommenen Sauerstoffes beträgt bei der Oxydation des Tyrosins ungefähr 0,35.

9. Die Insekten besitzen keine Uricoxydase. Die Alkoholoxydase scheint bei den Seidenraupen zu existieren.

10. Die Insekten enthalten das Succinicoxydon. Die Fliegen sind die an Succinicoxydon reichsten, hierauf folgen in absteigender Reihenfolge die Maikäfer, die Schmetterlinge des Seidenspinners, die Fliegenlarven und die Seidenraupen.

11. Die Oxydation der Bernsteinsäure durch die meisten der von uns untersuchten Insekten ist viel schwächer als die Oxydation des Polyphenols und des Tyrosins.

12. Die Oxydation der Bernsteinsäure durch die Insekten ist schwächer als durch die roten Muskeln, die Leber usw. der Säugetiere.

13. Es existiert ein ziemlich enger Parallelismus zwischen der Intensität der Bernsteinsäureoxydation durch die zerriebenen Insekten und der Intensität des Gaswechsels des lebenden Tieres.

14. Der Insektenbrei oxydiert die Citronensäure nicht. Zusatz von Natriumlactat oder Natriumacetat sowie von Glucose bleibt ohne Wirkung auf die Intensität des Gaswechsels der zerriebenen Insekten.

Über den Einfluß von Säuren und Alkalien auf das im Stadium der Regeneration befindliche diastatische Ferment.

Von

M. J. Gramenizky.

(Aus dem pharmakologischen Laboratorium der Kaiserl. Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 24. August 1913.)

Unter gewissen Bedingungen besitzt das diastatische Ferment, das durch hohe Temperatur in den inaktiven Zustand versetzt worden ist, gleich einigen anderen Fermenten die Eigenschaft, sich „spontan zu regenerieren"[1]). Es erhebt sich nun eine Reihe neuer Fragen über den Einfluß verschiedener chemischer und physikalisch-chemischer Agenzien auf dieses regenerierte Ferment, über den Einfluß verschiedener Aktivatoren, die jenen Prozeß modifizieren, beschleunigen oder abschwächen könnten.

Bis jetzt habe ich in dieser Richtung den Einfluß der Temperatur in aufeinander folgenden Perioden studiert (l. c.); jetzt habe ich versucht, die Rolle aufzuklären, welche das chemische Milieu hierbei spielt.

Die Methodik bestand in folgendem: Eine Fermentlösung (Taka-Diastase, Parke-Davis; das Ferment wurde im Laboratorium durch Behandlung mit Alkohol und Äther gereinigt), die sowohl vor als auch nach Erwärmung neutral reagiert, wurde nach der Erwärmung und Abkühlung in drei gleiche Portionen geteilt. Zu der ersten wurde eine bestimmte Menge Säure, zu der zweiten eine äquimolekulare Menge Alkali, zu der dritten destilliertes Wasser in dem entsprechenden Vo-

---

[1]) M. Gramenizky, Russische Dissertation 1910. — Ders., Zeitschr. f. physiol. Chem. **1910**.

lumen hinzugefügt. Nach diesem oder jenem Zeitraum wurde zu der ersten Portion eine äquimolekulare Menge Alkali, ein der Kontrollportion entsprechendes Volumen Wasser und eine bestimmte Quantität Stärkelösung hinzugefügt; zu der zweiten Portion: eine äquimolekulare Menge Säure, das der Kontrollportion entsprechende Volumen Wasser und eine bestimmte Quantität Stärkeabkochung; schließlich zu der dritten, der Kontrollportion: eine äquimolekulare Menge Säure und Alkali und eine bestimmte Quantität Stärkelösung. Dann wurde nach einem gewissen Zeitraum der entstandene Zucker (durch Titration mit Hilfe der Fehlingschen Flüssigkeit) quantitativ bestimmt.

Somit waren die Volumina der reagierenden Substanzen, die Konzentrationen des Ferments und die Bedingungen für die Hydrolyse der Stärke resp. die Volumina, die Quantitäten des gebildeten Salzes usw. überall genau dieselben.

Da der absolute Gehalt an Ferment in der Lösung in dem Sinne eine Rolle spielen konnte, daß bei größerer Menge desselben für die Erreichung des entsprechenden Effektes, d. h. beispielsweise ein und derselben Herabsetzung der fermentativen Kraft, entsprechend mehr Säure oder Alkali erforderlich war, so wurde zur Gewinnung von leicht vergleichbaren Resultaten eine ganz bestimmte, in den verschiedenen Experimenten übereinstimmende absolute Menge Ferment gewählt (wir nahmen gewöhnlich 3 ccm einer $^1/_{10}\,^0/_0$igen Fermentlösung).

Bis jetzt habe ich hinsichtlich des Einflusses auf das sich regenerierende Ferment Schwefelsäure und Ätznatron studiert. Als Beispiel will ich zuerst eins der Experimente beschreiben und dann in der zusammenfassenden Tabelle die allgemeinen Resultate meiner Beobachtungen mitteilen.

Experiment Nr. 8. Eine $^1/_{10}\,^0/_0$ige Fermentlösung wurde bis auf 85° C erhitzt und bis auf Zimmertemperatur abgekühlt.

A. (sogleich nach der Erwärmung): 3 ccm Ferment + 5 ccm Wasser + 5 ccm $^n/_{1000}$-H_2SO_4 + 5 ccm $^n/_{1000}$-NaOH + 10 ccm 1 $^0/_0$ige Stärkelösung; Hydrolyse innerhalb einer Stunde. Zucker: 6 mg.

B. 3 ccm Ferm. + 5 ccm Wasser
C. 3 ccm Ferm. + 5 ccm $^n/_{1000}$-H_2SO_4
D. 3 ccm Ferm. + 5 ccm $^n/_{1000}$-NaOH
} Nach 4 Stunden wurden zu diesen Lösungen hinzugefügt:

1) zu B: 5 ccm $^n/_{1000}$-NaOH = 5 ccm $^n/_{1000}$-H_2SO_4 +
10 ccm 1 %ige Stärkelösung,
2) zu C: 5 ccm Wasser + 5 ccm $^n/_{1000}$-NaOH +
10 ccm 1 %ige Stärkelösung,
3) zu D: 5 ccm Wasser + 5 ccm $^n/_{1000}$-H_2SO_4 +
10 ccm 1 %ige Stärkelösung.

Hydrolyse innerhalb einer Stunde.

Menge des gebildeten Zuckers: B: 12,0
" " " " C: 7,5
" " " " D: 18,5.

Somit regenerierte sich das Ferment im Beisein von Alkali in bedeutend höherem Maße als im Vergleich zur Norm, während in Gegenwart von Säure gerade das Gegenteil eintrat.

Die Resultate der so ausgeführten Beobachtungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt; dabei ist die Berechnung der Konzentrationen der geprüften Elektrolyte aus der äquimolekularen in die gewöhnliche prozentuale vorgenommen. Die Fermentmenge betrug überall 3 ccm einer $^1/_{10}$ %igen Lösung.

Tabelle.

Säure in %		Alkali in %	
0,0612 % und stärkere Konzentrationen	Starke Verzögerung der Regeneration bis zu völliger Aufhebung derselben	0,025 % und höhere Konzentrationen	Sehr starke Verzögerung der Regeneration bis zu völliger Aufhebung derselben
0,0122 %	Bedeutende Verzögerung	0,005 %	Fast ohne Einfluß
0,00612 %	Unbedeutende Verzögerung	0,0025 %	Bedeutende Verstärkung
0,00122 %	Fast ohne Einfluß	0,0005 %	Unbedeutende Verstärkung
0,00024 %	Ohne Einfluß	0,0001 %	Ohne Einfluß

Für die richtige Beurteilung der Tabelle muß ich hinzufügen, daß die Regeneration des Ferments während eines relativ kurzen Zeitraumes — 1 bis 5 Stunden — beobachtet wurde; bei längerer Beobachtungsdauer (z. B. 24 Stunden) änderten sich die Beziehungen in dem Sinne, daß die in Anwesenheit von Alkali aufgetretene Regeneration entweder stationär blieb oder sogar etwas zurückging, während die Regeneration des Ferments ohne Hinzufügung von Elektrolyten

noch weiter fortschritt. Die einmal begonnene Abschwächung der Regeneration in Gegenwart der Elektrolyte nahm progressiv zu. Schließlich beschleunigt augenscheinlich ein alkalisches Medium (dessen Optimum nach unseren Untersuchungen bei etwa 0,0025 $^0/_0$ NaOH liegt) nur die Regeneration des Ferments, ohne sie zu verstärken.

Somit besitzen wir im Alkali ein Mittel, welches das im Stadium der Regeneration befindliche diastatische Ferment aktivieren kann, während die Säure nur diese Regeneration verzögert, die auch ohne Beteiligung von Elektrolyten vor sich geht. Diese Beziehungen stehen in direktem Gegensatz zu dem, was über den diastatischen Prozeß an und für sich[1]) bekannt ist, wo die Säure in bestimmten Konzentrationen als Aktivator dient, während das Alkali stets eine verzögernde Wirkung ausübt (hiervon haben wir uns durch eigene Untersuchungen überzeugt).

Folglich verhält sich das Ferment an sich, ohne spezifisches Substrat, ein und denselben Einflüssen gegenüber entgegengesetzt wie das Ferment, welches sich in Begleitung eines Substrats und im Stadium seiner Wirkung befindet.

---

[1]) Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. 2. Aufl.

Über Indolbildung bei der alkalischen Hydrolyse der Eiweißkörper.

Von

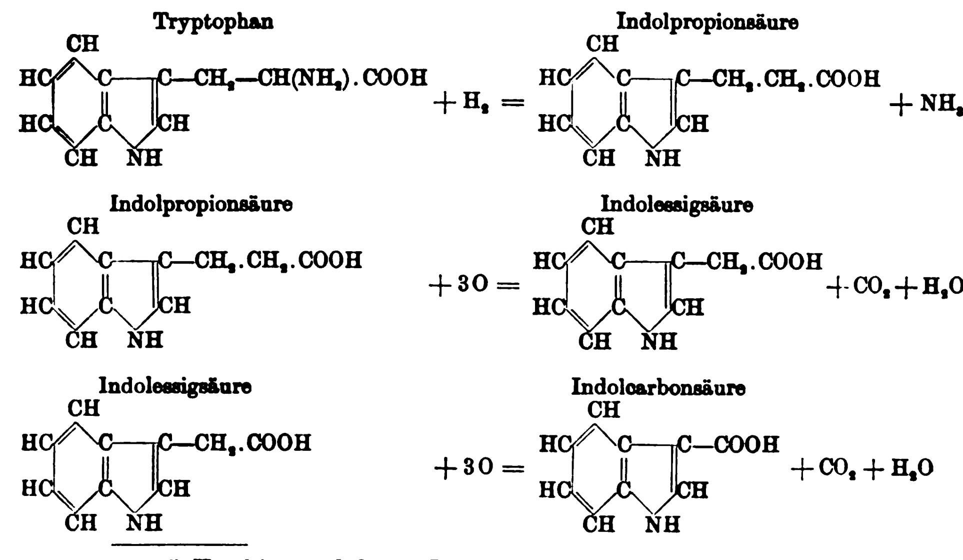
E. Herzfeld.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik Zürich.)

(Eingegangen am 27. August 1913.)

Indol wird gebildet aus Tryptophan bei der Fäulnis durch das gewöhnliche Gemisch von Fäulnisbakterien. Ebenso geben tryptophanhaltige Eiweißkörper bei der Fäulnis mehrere Indolderivate, nach den älteren Angaben Indol, Skatol, Skatolcarbonsäure und Skatolessigsäure.

Nach Hopkins und Cole[1]) könnte man sich die Zersetzung von reinem Tryptophan wie folgt vorstellen:



[1]) Hopkins und Cole, Journ. of Physiol. **29**, 451, 1903.

```
Indolcarbonsäure                          Indol
      CH                                    CH
HC/ \C——C—COOH                        HC/ \C——CH
 |   ||  ||                      =     |   ||  ||     + CO2
HC\ /C\ /CH                           HC\ /C\ /CH
   CH  NH                                CH  NH

Indolessigsäure                           Skatol
      CH                                    CH
HC/ \C——C—CH2.COOH                    HC/ \C——C—CH3
 |   ||  ||                      =     |   ||  ||     + CO2
HC\ /C\ /CH                           HC\ /C\ /CH
   CH  NH                                CH  NH
```

Nach Hoppe-Seyler[1]) soll Fibrin auch ohne Mitwirkung von Bakterien unter Indolbildung zersetzt werden. W. Koukol-Yasnopolski[2]) fand Indol beim Erhitzen von Eiweißkörpern mit Wasser auf 180°. W. Kühne[3]) konnte es beim Schmelzen von Eiweiß mit Kali gewinnen. Bezüglich der pyrrolhaltigen Eiweißkörper möge noch die Indolbildung aus Tripyrrol erwähnt werden. M. Dennstedt und F. Voigtländer[4]) konnten Tripyrrol durch Erhitzen in Ammoniak, Pyrrol und Indol überführen. Die Indolbildung soll nach folgender Gleichung vor sich gehen:

```
            Tripyrrol                          Indol (Benzopyrrol)              Pyrrol
      H    H    H    H                            H
HC——C——C——C——C——CH                       HC══C——C——CH                       HC——CH
||   |    |    |    |   ||            =     |     ||   ||    + NH3 +       ||    ||
HC\ /C——C\ /C——C\ /CH                     HC══C——C\ /CH                     HC\ /CH
   N  H  H N  H  H N                           N      N                         N
   H       H       H                                  H                         H
```

Die oben erwähnte Beobachtung von Hoppe-Seyler, daß Fibrin auch ohne Mitwirkung von Bakterien Indol liefert, fand in jüngster Zeit etwas Unterstützung, da Harnack und von der Leyen[5]), ferner Blumenthal[6]) auf Grund ihrer Versuchs-

[1]) Hoppe-Seyler, Tübinger med. Untersuch. S. 365.

[2]) W. Koukol-Yasnopolski, Arch. f. d. ges. Physiol. **12**, 78, 1876.

[3]) W. Kühne, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **8**, 206, 1875; Engler und Janecke, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **9**, 1411, 1876; Nencki, Journ. f. prakt. Chem. [2], **17**, 98, 1878.

[4]) M. Dennstedt und F. Voigtländer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **27**, 476, 1894.

[5]) Harnack und von der Leyen, Zeitschr. f. physiol Chem. **29**, 205, 1900.

[6]) Blumenthal, Leydens Festschrift II, 267, 1902.

ergebnisse die Ansicht vertraten, daß eine Indolbildung im menschlichen Organismus nicht allein infolge Einwirkung der Darmbakterien auf Eiweiß, sondern auch durch Zerfall von Gewebseiweiß möglich sein soll. Demgegenüber kommen Ellinger[1]) und seine Mitarbeiter auf Grund ihrer Versuchsresultate zu einem Schluß, daß Indol im Körper nur durch Fäulnis entstehen kann. Verfasser hat bei seinen Vorversuchen Resultate erhalten im Sinne von Hoppe-Seyler, die ihn veranlaßten, diese Frage einer eingehenderen Prüfung zu unterwerfen. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob aus Tryptophan und tryptophanhaltigen Eiweißkörpern auch ohne Bakterienwirkung, nur durch alkalische Hydrolyse Indol entstehen kann.

Zur Isolierung des Indols wurde jeweilen das Reaktionsgemisch destilliert. Im Destillat wurde das Indol mit Ehrlichs[2]) p-Dimethylaminobenzaldehydreaktion und, wenn möglich, mit Baeyers Nitrosoindolreaktion nachgewiesen. Zur quantitativen Indolbestimmung diente die von E. Herzfeld und J. Baur[3]) beschriebene spektrophotometrische Methode. Als Mittelwert für den Extinktionskoeffizienten (ε) wurde gleich 0,006 42 gefunden, entsprechend einer Verdünnung von 1 : 10 000 000. Die für alle Verdünnungen gültige Konstante betrug: 0,00156. Multipliziert man die Konstante mit den von der zu prüfenden Indollösung erhaltenen Extinktionskoeffizienten, so bekommt man die gesuchte Indolmenge.

Angewandte Reagenzien:

1. 20 g p-Dimethylaminobenzaldehyd,
   500 g konzentrierte Salzsäure,
   500 g destilliertes Wasser.
2. Absoluter Alkohol.

Das Destillat wurde mit Xylol gut ausgeschüttelt, die untere Schicht abgelassen und mit der Xylolschicht die Indolreaktion ausgeführt, indem man 25 ccm Reagens und 25 ccm absoluten Alkohol hinzufügte, kräftig schüttelte, bis eine bleibende Rotfärbung auftrat. Die untere rotgefärbte Schicht

[1]) Ellinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 39, 44, 1903.
[2]) P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr., Aprilheft 1901.
[3]) E. Herzfeld und J. Baur, Centralbl. f. inn. Med. 1913, Nr. 11.

wurde durch ein trockenes Filter filtriert, das klare Filtrat in eine Röhre des Spektrophotometers gefüllt, in die andere Röhre aber 25 ccm Reagens + 25 ccm absoluter Alkohol. Wenn rechts die Röhre mit Reagens + Alkohol + Indol ist und links die Röhre mit Reagens + Alkohol, so kann man „α_2“ ablesen; beim Austausch der Röhren erhält man „α_1“. Ist die Schichtdicke (Röhrenlänge) bekannt „d“, so kann man den Extinktionskoeffizienten (ε) berechnen.

$$\varepsilon = \frac{\log \operatorname{tg} \alpha_1 - \log \operatorname{tg} \alpha_2}{d}.$$

I. Einwirkung von Wasser auf Eiweißkörper.

Casein wurde wiederholt mit absolutem Alkohol gewaschen und sorgfältig getrocknet. 5 g dieses so sterilisierten Caseins versetzte man hierauf mit 1 Liter ebenfalls sterilem Wasser, ließ es im Brutschrank 24 Stunden stehen und destillierte dann davon 500 ccm ab. Im Destillat war mit Ehrlichs Reagens Indol, zwar in Spuren, aber deutlich nachweisbar. Um festzustellen, ob die positive Indolreaktion nicht etwa durch das Destillieren entstanden ist, wurden 10 g Casein wie oben mit 1 Liter Wasser 24 Stunden im Brutschrank stehen gelassen, dann filtriert, das klare Filtrat mit Xylol ausgeschüttelt und mit der Xylolschicht die Indolreaktion ausgeführt; sie fiel schwächer, aber noch deutlich positiv aus. Nachdem zahlreiche Kontrollversuche zu demselben Ergebnis führten, wurde bei 2 Versuchen reines Tryptophan wie oben behandelt, und auch hier war Indol nachweisbar. Hervorzuheben ist, daß bei all diesen Versuchen Baeyers Nitrosoindolreaktion (Zusatz von einigen Tropfen 0,02 %iger $NaNO_2$-Lösung und einige Tropfen Schwefelsäure : Rotfärbung) negativ ausfiel. Man könnte aus obigen Versuchen die Vermutung aufstellen, daß schon Wasser imstande sei, aus dem Tryptophan bzw. Eiweiß Indol abzuspalten.

II. Einwirkung von Alkalien auf Eiweißkörper.

Um der Darmalkalescenz entsprechende Bedingungen einzuhalten, sollten bei den folgenden Versuchen Alkalien herangezogen werden. Wenn man annehmen darf, daß aus Tryptophan bzw. Eiweiß durch Einwirkung von Wasser schon bei

Tabelle I.

Nr.	Eiweißkörper	Reaktionsgemisch	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient ε	Indolmenge mg	Bemerkungen	
1	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3	$\alpha_1 = 56^\circ\ 36'$ $\alpha_2 = 44^\circ\ 6'$	0,0389	0,0607	Destillat 500 ccm	3 Versuche
2	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3	$\alpha_1 = 53^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 40^\circ$	0,0488	0,0761	do.	do.
3	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3	$\alpha_1 = 49^\circ\ 30'$ $\alpha_2 = 42^\circ\ 6'$	0,0225	0,0251	do.	do.
4	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 47^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 44^\circ\ 30'$	0,0102	0,0159	do.	do.
5	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 48^\circ\ 42'$ $\alpha_2 = 41^\circ\ 36'$	0,0216	0,0337	do.	do.
6	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 48^\circ\ 6'$ $\alpha_2 = 42^\circ\ 12'$	0,0179	0,0279	do.	do.
7	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 54^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 36^\circ\ 30'$	0,0565	0,0881	do.	do.
8	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 56^\circ\ 54'$ $\alpha_2 = 33^\circ\ 48'$	0,0720	0,1120	do.	do.
9	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 53^\circ\ 24'$ $\alpha_2 = 38^\circ\ 6'$	0,0470	0,0733	do.	do.
10	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 2 % NaOH	$\alpha_1 = 48^\circ\ 36'$ $\alpha_2 = 44^\circ$	0,0140	0,0218	do.	do.
11	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,2 % NaOH	$\alpha_1 = 49^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 42^\circ\ 36'$	0,0219	0,0342	do.	do.
12	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,2 % NaOH	$\alpha_1 = 49^\circ\ 12'$ $\alpha_2 = 43^\circ\ 6'$	0,0185	0,0289	do.	do.
13	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 42^\circ\ 36'$ $\alpha_2 = 41^\circ\ 12'$	0,0043	0,0067	do.	do.
14	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 43^\circ\ 42'$ $\alpha_2 = 39^\circ\ 12'$	0,0138	0,0213	do.	do.
15	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 100 ccm 3 % H_2O_2	$\alpha_1 = 42^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 40^\circ\ 6'$	0,0083	0,0129	do.	do.
16	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 48^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 41^\circ\ 12'$	0,0231	0,0360	do.	do.
17	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 49^\circ\ 48'$ $\alpha_2 = 39^\circ\ 12'$	0,0323	0,0504	do.	do.
18	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 0,2 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 50^\circ\ 12'$ $\alpha_2 = 39^\circ\ 54'$	0,0314	0,0489	do.	do.
19	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 6 % NaOH	$\alpha_1 = 44^\circ\ 36'$ $\alpha_2 = 34^\circ$	0,0329	0,0513	do.	do.
20	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 6 % NaOH	$\alpha_1 = 70^\circ\ 30'$ $\alpha_2 = 17^\circ$	0,1931	0,3010	do.	do.

Tabelle I (Fortsetzung).

Nr.	Eiweiß-körper	Reaktionsgemisch	Abgelesene Winkel	Ex-tinktions-koeffizient ε	Indol-menge mg	Bemerkungen	
21	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 6% NaOH	$\alpha_1 = 56° 18'$ $\alpha_2 = 32°$	0,0760	0,1190	Destillat 500 ccm	3 Versuche
22	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 9% NaOH	$\alpha_1 = 54° 30'$ $\alpha_2 = 38° 18'$	0,0498	0,0777	do.	do.
23	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 9% NaOH	$\alpha_1 = 75° 54'$ $\alpha_2 = 14° 6'$	0,2400	0,3740	do.	do.
24	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 9% NaOH	$\alpha_1 = 70°$ $\alpha_2 = 12° 36'$	0,2179	0,3400	do.	do.
25	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 12% NaOH	$\alpha_1 = 48° 42'$ $\alpha_2 = 37° 6'$	0,0355	0,0554	do.	do.
26	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 12% NaOH	$\alpha_1 = 70° 30'$ $\alpha_2 = 16° 48'$	0,1962	0,3060	do.	do.
27	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 12% NaOH	$\alpha_1 = 57° 12'$ $\alpha_2 = 28° 42'$	0,0905	0,1410	do.	do.
28	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 9% NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 68° 30'$ $\alpha_2 = 22° 36'$	0,1571	0,2450	do.	do.
29	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 9% NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 75° 36'$ $\alpha_2 = 14° 6'$	0,2381	0,3710	do.	do.
30	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 9% NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 81° 6'$ $\alpha_2 = 9° 36'$	0,3154	0,4920	do.	do.
31	1 g Casein	1 g Casein + 1000 ccm 9% NaOH + 5 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 69° 24'$ $\alpha_2 = 21° 48'$	0,1646	0,2570	do.	do.
32	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin + 1000 ccm 9% NaOH + 5 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 76° 54'$ $\alpha_2 = 14° 48'$	0,2422	0,3780	do.	do.
33	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton + 1000 ccm 9% NaOH + 5 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 82° 18'$ $\alpha_2 = 7° 54'$	0,3453	0,5390	do.	do.

Brutschranktemperatur und vielmehr bei Siedehitze Indol abgespalten wird, so schien es zweckmäßig, die folgenden alkalischen Hydrolysen bei Siedetemperatur auszuführen, um so mehr, da auf diese Weise jegliche Bakterienwirkung ausgeschlossen ist. Untersucht wurden zunächst drei verschiedene Eiweißkörper, Casein, Hämoglobin und Witte-Pepton. Auch die Konzentration der angewandten Alkalien wurden variiert und der Einfluß von zugesetztem Wasserstoffsuperoxyd und Kupfersulfat. Jeder in der vorstehenden Tabelle angeführte Versuch stellt den Mittelwert von 2 und womöglich 3 Versuchen dar. Abdestilliert wurden jeweilen 500 ccm Flüssigkeit. Die Röhren-

länge war bei allen spektrophotometrischen Bestimmungen 5 cm.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß schon eine 0,5 %ige Na_2CO_3-Lösung (Darmalkalescens) eine Indolabspaltung hervorrufen kann. Zusatz von 3 % Wasserstoffsuperoxydlösung (oxydierende Wirkung) vermindert die Indolbildung, dagegen übt 1 g $CuSO_4$ eine steigernde Wirkung aus. Ähnliche Resultate wurden bei Anwendung einer 0,2 %igen NaOH-Lösung erhalten. Auch die Wirkung von Barytwasser und Kalkwasser (in der Tabelle nicht angegeben) wurde geprüft, wobei es sich zeigte, daß diese noch schwächer war, als die bei einer 0,5 %igen Na_2CO_3-Lösung. Die weiteren Versuche wurden mit NaOH-Lösungen von steigender Konzentration ausgeführt, um das Optimum der Indolbildung festzustellen. Die günstigste Bedingung für die Indolbildung scheint dann erreicht zu sein, wenn man eine etwa 9 %ige NaOH-Lösung (1000 ccm) und 1 g $CuSO_4$ auf 1 g des Eiweißkörpers einwirken läßt. Dagegen wirkt eine stärkere NaOH (12 %) auf die Indolmenge vermindernd und eine 5fache Menge von $CuSO_4$ übt auch keine nennenswerte Steigerung der Indolbildung aus.

III. Indolbildung aus reinem Tryptophan.

Es war auch von großer Bedeutung, festzustellen, wie sich das chemisch reine, freie Tryptophan gegenüber Wasser, Na_2CO_3 und NaOH unter den oben beschriebenen Bedingungen verhält. Nachdem ein Vorversuch mit unreinem Tryptophan gezeigt hat, daß bei der Destillation mit 1000 ccm 9 % NaOH und 1 g $CuSO_4$ im Destillat ein Körper vorhanden ist, der sowohl die Baeyersche Nitrosoindolreaktion, wie auch die Ehrlichsche Aldehydreaktion gibt, wurde chemisch reines Tryptophan verarbeitet. Sowohl das Tryptophan, wie auch zahlreiche der verarbeiteten Eiweißkörper hat mir Herr Prof. Dr. E. Winterstein in liebenswürdiger Weise überlassen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen ergebensten Dank aussprechen möchte.

Berechnet man die theoretisch mögliche Indolmenge, die aus dem Tryptophan gebildet wird, so ergibt es sich:

$$\begin{array}{ccl} \text{Tryptophan} & & \text{Indol} \\ 204 & : & 117 = 100 : x \\ & & x = 57{,}35\,\% . \end{array}$$

Tabelle II enthält die Versuchsresultate.

Tabelle II.

Nr.	Tryptophan-menge mg	Reaktionsgemisch	Abgelesene Winkel	Extinktions-koeffizient ε	Gefundene Indolmenge mg	Theoretische Indolmenge mg	Bemerkungen
1	4	4 mg Tryptophan + 1000 ccm Wasser	$\alpha_1 = 43^0\,54'$ $\alpha_2 = 42^0\,42'$	0,0036	0,0057	2,28	Entspricht also 0,25 % der Theorie. 2 Versuche.
2	4	4 mg Tryptophan + 1000 ccm 0,5 % Na_2CO_3 + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 45^0\,18'$ $\alpha_2 = 43^0\,30'$	0,0055	0,0085	2,28	0,38 % 2 Versuche.
3	1	1 mg Tryptophan + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_2$	$\alpha_1 = 69^0\,18'$ $\alpha_2 = 23^0\,30'$	0,1568	0,2450	0,57	43,52 % 2 Versuche.
4	2	2 mg Tryptophan + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 83^0\,30'$ $\alpha_2 = 9^0\,6'$	0,3478	0,5430	1,14	48,18 % 2 Versuche.
5	4	4 mg Tryptophan + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 86^0\,30'$ $\alpha_2 = 6^0\,18'$	0,4341	1,3500	2,28	60,00 % Zum Spektrophotometrieren 2fach verdünnt. 2 Versuche.
6	8	8 mg Tryptophan + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 76^0\,48'$ $\alpha_2 = 8^0\,6'$	0,2953	2,7660	4,56	61,47 % Zum Spektrophotometrieren 6fach verdünnt. 2 Versuche.

Aus obiger Tabelle ist ersichtlich, daß man aus dem Tryptophan schon mit Hilfe von Wasser geringe Mengen von Indol abspalten kann. Größere Mengen erhält man bei Anwendung einer 0,5 %igen $NaCO_3$-Lösung und $CuSO_4$. Schließlich mit einer 9 %igen NaOH-Lösung und $CuSO_4$ gelingt es, etwa 60 % der theoretisch möglichen Indolmenge aus dem Tryptophan abzuspalten.

IV. Verarbeitung von tryptischen Verdauungsflüssigkeiten verschiedener Eiweißkörper.

Aus den bisherigen Versuchen scheint hervorzugehen, daß die Indolabspaltung im obigen Sinne am günstigsten beim Tryptophan und bei solchen Eiweißkörpern erfolgt, die den Tryptophanrest in einer Form enthalten, wie es bei den Peptonen der Fall ist. In den nachfolgenden Versuchen sollten daher verschiedene Eiweißkörper vorher mit Pan-

kreatin verdaut und dann, wie oben, weiter verarbeitet werden. Es wurde jeweilen 1 g der Eiweißkörper mit 0,5 g Pankreatin (Merck) und 500 ccm 0,5 %ige Na_2CO_3-Lösung 42 Stunden im Brutschrank stehen gelassen, sodann mit 300 ccm 30 % NaOH und 1 g $CuSO_4$ versetzt, bis 1000 ccm mit Wasser aufgefüllt und davon 500 ccm abdestilliert. Die Reagenzien wurden vor dem Gebrauch aufgekocht und die Eiweißkörper mit absolutem Alkohol gewaschen. Es war auch vor der Destillation in keinem Falle im Reaktionsgemisch Indol nachweisbar, dagegen fielen die Tryptophanreaktionen stets positiv aus. Zunächst mußten die zwei zur Anwendung gelangenden Pankreatinpräparate untersucht werden. Dann wurden die Eiweißkörper verdaut, wobei die Verdauungsflüssigkeit stets mit Chloroform unterschichtet und mit Xylol überschichtet war.

Tabelle III enthält die Versuchsresultate.

Der Mittelwert der Indolmenge, die aus 1 g der angegebenen Eiweißkörper mit NaOH und $CuSO_4$ abgespalten wird, beträgt rund 0,3 mg. Wenn man nun annehmen darf, daß die verarbeiteten Eiweißkörper im Mittel etwa 0,8 % Tryptophan enthalten (Tryptophanbestimmungen der Eiweißkörper sind im Gange), so würden in 1 g der Eiweißkörper im Mittel 8 mg Tryptophan vorhanden sein. 8 mg Tryptophan geben theoretisch 4,6 mg Indol, erhalten wurden aber nur 0,3 mg Indol. Folglich könnte man nach obiger Angabe aus 1 g Eiweißkörper mit 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$ etwa 6,5 % der theoretischen Indolmenge abspalten.

V. Prüfung auf Pyrrol und Skatol.

Bisher wurde auf Grund der positiv ausgefallenen Indolreaktionen angenommen, daß es sich in den Destillaten um Indol handelt. Jedoch könnte man bei der Eiweißhydrolyse an die Möglichkeit der Anwesenheit von Pyrrol und Skatol denken, die auch in den Destillaten zu finden wären und auch die Ehrlichsche Reaktion geben. Zunächst sollten die Destillate auf Pyrrol geprüft werden. Die Isatinreaktion (Pyrrol + wässerige Isatinlösung + verd. H_2SO_4 geben einen tiefblauen Brei, der sich in Essigsäure in tiefblauer Farbe löst) nach V. Meyer[1]) fiel negativ aus.

---

[1]) V. Meyer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **16**, 2974, 1883.

Tabelle III.

Nummer	Eiweißkörper	Reaktionsgemisch	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient ε	Gefund. Indolmenge mg	Korrigierte Indolmenge (Abzug 0,041) mg	Bemerkungen
1	1 g Pankreatin (Merck)	1 g Pankreatin + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 50^\circ\ 6'$ $\alpha_2 = 33^\circ 18'$	0,0521	0,0813	—	Merck 2 Versuche
2	0,5 g Pankreatin	0,5 g Pankreatin + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$	$\alpha_1 = 54^\circ 30'$ $\alpha_2 = 44^\circ 36'$	0,0305	0,0519	—	Merck, anderes Präparat 2 Versuche
3	1 g Eieralbumin	1 g Eieralbumin + 0,5 g Pankreatin + 500 ccm 0,5 % Na_2CO_3 nach 24 Std. + 1 g $CuSO_4$ + 300 ccm 30 % Na_2OH ad 1 l H_2O	$\alpha_1 = 72^\circ 48'$ $\alpha_2 = 18^\circ 42'$	0,1960	0,3070	0,266	3 Versuche
4	1 g Albumin aus Blut	1 g Albumin a. Bl. + 0,5 g Pankreatin + 500 ccm 0,5 % Na_2CO_3 nach 24 Std. + 1 g $CuSO_4$ + 300 ccm 30 % NaOH ad 1 l H_2O	$\alpha_1 = 74^\circ 18'$ $\alpha_2 = 17^\circ 12'$	0,2121	0,3310	0,290	3 Versuche
5	1 g Tyroalbumin	1 g Tyroalbumin wie oben	$\alpha_1 = 78^\circ 24'$ $\alpha_2 = 12^\circ 48'$	0,266	0,415	0,374	2 Versuche
6	1 g Lactalbumin	1 g Lactalbumin wie oben	$\alpha_1 = 66^\circ 48'$ $\alpha_2 = 22^\circ\ 6'$	0,152	0,237	0,196	1 Versuch
7	1 g Albumin aus Milch	1 g Albumin aus Milch wie oben	$\alpha_1 = 76^\circ 12'$ $\alpha_2 = 13^\circ 18'$	0,247	0,386	0,345	2 Versuche
8	1 g Blutfibrin	1 g Blutfibrin wie oben	$\alpha_1 = 80^\circ 00'$ $\alpha_2 = 10^\circ 12'$	0,299	0,468	0,427	3 Versuche
9	1 g Pflanzenfibrin	1 g Pflanzenfibrin wie oben	$\alpha_1 = 73^\circ 12'$ $\alpha_2 = 16^\circ 30'$	0,210	0,327	0,286	1 Versuch
10	0,5 g Serumglobulin	0,5 g Serumglobulin wie oben	$\alpha_1 = 64^\circ 54'$ $\alpha_2 = 23^\circ 48'$	0,137	0,214	0,387 (1 g)	1 Versuch korr. Menge auf 1 g umgerechnet
11	1 g Globulin a. Kürbiskernen	1 g Globulin aus Kürbiskernen wie oben	$\alpha_1 = 80^\circ 54'$ $\alpha_2 = 8^\circ 43'$	0,321	0,501	0,460	2 Versuche
12	1 g Conglutin a. gelb. Lupin.	1 g Conglutin aus gelben Lupinen wie oben	$\alpha_1 = 66^\circ 18'$ $\alpha_2 = 26^\circ 30'$	0,132	0,207	0,166	2 Versuche
13	1 g Legumin aus Erbsen	1 g Legumin aus Erbsen wie oben	$\alpha_1 = 68^\circ 30'$ $\alpha_2 = 19^\circ 48'$	0,170	0,265	0,224	2 Versuche
14	1 g Edestin	1 g Edestin wie oben	$\alpha_1 = 71^\circ 36'$ $\alpha_2 = 20^\circ 12'$	0,184	0,288	0,247	3 Versuche
15	1 g Glutencas. a. Weizenkleb.	1 g Glutencasein aus Weizenkleber wie oben	$\alpha_1 = 74^\circ 18'$ $\alpha_2 = 17^\circ 12'$	0,212	0,331	0,290	2 Versuche
16	1 g Zein	1 g Zein wie oben	$\alpha_1 = 54^\circ 42'$ $\alpha_2 = 44^\circ 30'$	0,031	0,053	0,012	2 Versuche

Tabelle III (Fortsetzung).

Nummer	Eiweißkörper	Reaktionsgemisch	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient ε	Gefund. Indolmenge mg	Korrigierte Indolmenge (Abzug 0,041) mg	Bemerkungen
17	0,35 g Fibroin	0,35 g Fibroin wie oben	$\alpha_2 = 54^\circ\ 6'$ $\alpha_2 = 32^\circ 00'$	0,069	0,107	0,265 (1 g)	1 Versuch korr. Menge auf 1 g umgerechnet
18	0,6 g Keratin	0,6 g Keratin wie oben	$\alpha_1 = 52^\circ\ 6'$ $\alpha_2 = 33^\circ 30'$	0,058	0,090	0,109 (1 g)	1 Versuch korr. Menge auf 1 g umgerechnet
19	1 g Gelatine	1 g Gelatine wie oben	$\alpha_1 = 63^\circ\ 6'$ $\alpha_2 = 18^\circ 12'$	0,156	0,243	0,202	2 Versuche
20	1 g Elastin	1 g Elastin wie oben	$\alpha_1 = 62^\circ 18'$ $\alpha_2 = 22^\circ\ 6'$	0,132	0,206	0,165	1 Versuch
21	1 g Mucedin (Pflanzenleim)	1 g Mucedin wie oben	$\alpha_1 = 72^\circ 24'$ $\alpha_2 = 18^\circ 30'$	0,195	0,304	0,263	1 Versuch
22	1 g Heteroalbumose	1 g Heteroalbumose wie oben	$\alpha_1 = 79^\circ 36'$ $\alpha_2 = 9^\circ 30'$	0,303	0,472	0,431	2 Versuche
23	1 g Witte-Pepton	1 g Witte-Pepton wie oben	$\alpha_1 = 72^\circ 12'$ $\alpha_2 = 19^\circ 30'$	0,189	0,295	0,549	3 Versuche Dest. 2 fach verdünnt
24	1 g Casein	1 g Casein wie oben	$\alpha_1 = 74^\circ 36'$ $\alpha_2 = 15^\circ 30'$	0,229	0,356	0,315	3 Versuche
25	1 g Caseoglutin	1 g Caseoglutin wie oben	$\alpha_1 = 73^\circ 12'$ $\alpha_2 = 15^\circ\ 6'$	0,218	0,340	0,299	2 Versuche
26	1 g Vitellin	1 g Vitellin wie oben	$\alpha_1 = 82^\circ 12'$ $\alpha_2 = 8^\circ 24'$	0,339	0,529	0,488	2 Versuche
27	1 g Bierhefe	1 g Bierhefe wie oben	$\alpha_1 = 58^\circ 42'$ $\alpha_2 = 29^\circ 30'$	0,093	0,145	0,104	2 Versuche
28	1 g nucleinsaures Natron	1 g nucleinsaures Natron wie oben	$\alpha_1 = 47^\circ 48'$ $\alpha_2 = 34^\circ 48'$	0,040	0,062	0,021	2 Versuche
29	1 g Pepsin	1 g Pepsin wie oben	$\alpha_1 = 52^\circ 30'$ $\alpha_2 = 39^\circ 30'$	0,040	0,062	0,021	2 Versuche
30	1 g Ptyalin	1 g Ptyalin wie oben	$\alpha_1 = 66^\circ 30'$ $\alpha_2 = 23^\circ 12'$	0,146	0,228	0,187	2 Versuche
31	1 g Hämoglobin	1 g Hämoglobin wie oben	$\alpha_1 = 76^\circ 42'$ $\alpha_2 = 12^\circ 36'$	0,255	0,398	0,357	3 Versuche
32	0,4 g Mucin	0,4 g Mucin wie oben	$\alpha_1 = 58^\circ 30'$ $\alpha_2 = 29^\circ 36'$	0,092	0,143	0,317	1 Versuch korr. Menge auf 1 g umgerechnet

Verfasser möchte an dieser Stelle eine einfache Pyrrolreaktion empfehlen, die zugleich den Nachweis des etwa vorhandenen Indols gestattet. Die Reaktion beruht auf der von Legal[1]) beschriebenen Indolreaktion: Man fügt zu einer Indollösung frisch hergestellte Nitroprussidnatriumlösung bis zur Gelbfärbung und einige Tropfen NaOH, so entsteht eine violettblaue Färbung, die auf Zusatz von Eisessig rein blau wird. Schüttelt man diese blaue Lösung mit Chloroform, so löst sich der blaue Farbstoff nicht auf. Prüft man eine Pyrrollösung in ähnlicher Weise, so entsteht nach einigen Minuten eine braunrote Färbung. Dieser braunrote Farbstoff läßt sich sehr leicht mit Chloroform ausschütteln; ist auch Indol zugegen, so zeigt nach dem Ausschütteln mit Chloroform die wässerige Schicht eine blaue, die Chloroformschicht eine braunrote Farbe. Auch diese Reaktion fiel in den Destillaten negativ aus. Wenn man endlich noch bedenkt, daß Pyrrol kein Nitrosoderivat i efert, so kann man sagen, daß die Destillate pyrrolfrei sind.

Zu erwähnen wäre eine bei den Versuchen mit Pyrrol gemachte Beobachtung. 1 Tropfen von chemisch reinem Pyrrol, in frischem Zustande mit Wasser geschüttelt, mit 2 bis 3 Tropfen 0,02 % $NaNO_2$ und 1 bis 2 Tropfen konz. H_2SO_4 versetzt, gibt keine Rotfärbung, dagegen trat nach einigen Tagen eine deutliche Nitrosoindolreaktion auf. Es scheint also, daß die Polymerisierung des Pyrrols in Tripyrrol und Bildung von Indol aus Tripyrrol ziemlich rasch vor sich geht.

Was nun das Vorhandensein des Skatols anbelangt, soll zunächst auf die Tatsache hingewiesen werden, daß wässerige Skatollösungen, mit einigen Tropfen Salpetersäure und etwas Natriumnitritlösung versetzt, keine Rotfärbung (wie Indol), sondern eine weißliche Trübung geben. Solche Trübungen konnten in den Destillaten nicht beobachtet werden, dagegen Rotfärbung. Auch die Reaktion von A. Schmidt[2]) mit dem Ehrlichschen p-Dimethylamidobenzaldehyd-Reagens, die mit Skatollösungen und Salzsäure eine blauviolette Farbe gibt, fiel stets negativ aus.

Aus obigen Versuchen kann also mit großer Wahrscheinlichkeit gefolgert werden, daß bei der beschriebenen Hydrolyse

[1]) Legal, Breslauer ärztl. Zeitschr. 3 u. 4, 1884.
[2]) A. Schmidt, Münchner med. Wochenschr. 1903, 721.

aus Tryptophan und Eiweiß nur Indol gebildet wird. Um diese Annahme zu erhärten, wurden folgende Versuche ausgeführt. 10 g Casein (damit genügend Indol gebildet wird zur Nitrosoindolreaktion) wurden mit 1000 ccm 9 % NaOH und 1 g $CuSO_4$ destilliert, bis 600 bis 700 ccm in die Vorlage übergingen. Das Destillat wurde genau gemessen, in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte mit 2 bis 3 Tropfen 0,02 %iger $NaNO_2$-Lösung und einigen Tropfen konz. H_2SO_4 (bis zur sauren Reaktion) versetzt, mit einer 1 mg Indol enthaltenden wässerigen Lösung desselben Volumens verglichen. In der anderen Hälfte wurde das Indol, wie oben beschrieben, spektrophotometrisch bestimmt.

Versuch 1.

10 g Casein + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$ destilliert;
Destillat 700 ccm.

a) In 350 ccm wurden colorimetrisch (verglichen mit 1 mg Indol in 350 ccm) 0,00071 g Indol gefunden. Gesamtindol = 0,00142 g.

b) In 350 ccm spektrophotometrisch:

$\alpha_1 = 85^\circ 30'$ $\varepsilon = 0,4307$ Gefundenes Indol = 0,00069 g
$\alpha_2 = 5^\circ 6'$ 2fach verdünnt Gesamtindol = 0,00138 g.

Versuch 2.

10 g Casein + 1000 ccm 9 % NaOH + 1 g $CuSO_4$ destilliert;
Destillat 600 ccm.

a) In 300 ccm wurden colorimetrisch 0,00068 g Indol gefunden. Gesamtindol = 0,00136 g.

b) In 300 ccm spektrophotometrisch:

$\alpha_1 = 84^\circ 42'$ $\varepsilon = 0,4293$ Gefundenes Indol = 0,000685 g
$\alpha_2 = 4^\circ 24'$ 2fach verdünnt Gesamtindol = 0,00137 g.

Über die Dialysierbarkeit und Eigenschaften der Maltase.

Von

W. Kopaczewski.

(Aus dem Institut Pasteur, Paris.)

(Eingegangen am 29. August 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Dialyse der Fermente war schon oft Gegenstand der Untersuchungen, die erhaltenen Resultate sind jedoch nicht einstimmig. Was die Maltase anbetrifft, so behauptete Preti[1]), daß sie die Kollodiummembrane nicht durchdringt, Levy[2]) dagegen hält sie für ein vollständig dialysierbares Enzym. Diese Widersprüche sind jetzt leicht erklärbar: verschiedene Forscher haben die Struktur der Kolloide übersehen. — Es ist bekannt, daß die Dialysierbarkeit einerseits von der Größe der Kolloidpartikelchen und andererseits von der Größe der Membranporen bedingt ist. Die Größe der Poren der zur Dialyse gebrauchten Kollodiummembranen kann durch den Zusatz von gewissen Substanzen, wie z. B. Eisessig, gesteigert oder durch Ricinusöl, Sterilisation vermindert werden. Wenn wir z. B. eine Lösung von rotem kolloiden Gold [nach Zsigmondy[3]) bereitet] durch eine angesäuerte Kollodiummembran bei 7 bis 8 mm Druck filtrieren, so können wir beobachten, daß das Filtrat vollständig entfärbt ist; nehmen wir jetzt eine Hämoglobinlösung (Hammelblut), dann sehen wir, daß sie durch die Membran geht; dasselbe erfolgt mit 2⁰/₀iger Maltaselösung. Daraus kann man schließen, daß die Partikelchen des kolloiden Goldes größer als diejenigen des Hämoglobins und der Maltase sind. Verwendet man statt

[1]) Puti, diese Zeitschr. 4, 1, 1907.
[2]) Levy, The Journ. of Infections Diseases 2, 1, 1905.
[3]) Zsigmondy, Zeitschr. f. Elektrochem. 4, 546, 1898.

des angesäuerten Kollodiums das gewöhnliche, so sieht man, daß auch die Maltase festgehalten wird, während die Hämoglobinlösung nach der Filtration noch schwach gefärbt ist. Auf diese Weise könnte man vielleicht einen Kollodiumkomplex durch solche „Differentialdialyse“ in (Bechholds „fraktionierte Dialyse“) seine Bestandteile zerlegen; die ausführlichen Versuche, die solche Vermutungen bestätigen könnten, fehlen jedoch bisher[1]).

Die Dialysierbarkeit der Kolloide hängt auch von der Reaktion des Milieus ab[2]). Alle diese Verhältnisse und Bedingungen sind in den umfangreichen Versuchen Bechholds klargelegt: bei der Dialysierbarkeit der Kolloide muß man die Reaktion des Milieus, die Größe der Membranporen und der Kolloidpartikelchen in Betracht nehmen und, was daraus folgt, bei jeder Arbeit über die Dialyse der Kolloide genau die obengenannten Versuchsbedingungen beschreiben.

Die Maltase ist, soweit unsere Kenntnisse reichen, nur von Bierry[3]) dialysiert. Bierry findet, daß die Pankreasmaltase nach 24 bis 30 stündiger Dialyse vollständig inaktiviert wurde und daß sie durch den Zusatz von Elektrolyten reaktiviert werden kann; „nach längerer Dialyse ist die Maltase verschwunden“. In der Originalarbeit finden wir jedoch keine näheren Angaben über die Versuchsbedingungen.

Ausgehend von der Tatsache, daß die bis heute dargestellten Fermente Gemische mit Verunreinigungen darstellen und daß die Untersuchungen über die Wirkungen der Säuren, Alkalien oder Salze auf diese unreinen Fermente nicht einwandfrei sein können (denn die Verunreinigungen, die die Fermentpräparate enthalten, können mit diesen Substanzen irgendwelche Verbindungen eingehen), und daß deshalb die Interpretation der Ergebnisse nicht möglich sei, wollten wir parallel die Wirkung der Säuren auf die undialysierte und dialysierte Maltase studieren und auf diese Weise unsere früheren Schlußfolgerungen kontrollieren[4]).

---

[1]) Bechhold, Zeitschr. f. physikal. Chem. **60**, 257. Bechold gelang es auf diese Weise, verschiedene Albumose voneinander zu trennen.

[2]) Holderer, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **155**, 318, 1912.

[3]) Bierry, Compt. rend. Soc. Biol. **1**, 1131, 1906.

[4]) Kopaczewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 182, 1912.

In dieser Arbeit geben wir nur die erste Hälfte unserer Untersuchungen wieder, die wir vorläufig unterbrechen mußten.

Als Maltase haben wir Takadiastase (Parke-Davis) angewandt; sie besitzt eine gegen Lackmus schwach saure, gegen Helianthin schwach alkalische Reaktion: 0,2 g der Takadiastase benötigen 9,7 ccm $^{n}/_{100}$-Schwefelsäure, um den Umschlag in die rote Farbe des Helianthins hervorzurufen. Unsere Takadiastase besaß eine ziemlich hohe Reduktionskraft: 20 mg der Takadiastase lieferten 17,9 mg Kupferoxydul, während 20 mg Maltose 22,1 mg ergaben; also ist das Verhältnis zwischen der Reduktionskraft der Maltase und der Maltose 81,3 % und entspricht 78 % des Zuckers, als Maltose ausgedrückt. Mit unseren früheren Angaben verglichen, zeigt sich die Takadiastase in bezug auf die Reduktionskraft als ziemlich konstantes Präparat. Die Takadiastase, im Exsiccator bis zum konstanten Gewicht getrocknet, besaß die folgende Zusammensetzung:

Wasser bei + 110°	5,65 %
Organische Bestandteile . . .	88,25 %
Mineralbestandteile	6,10 %

Wir haben eine Mineralanalyse der Asche vorgenommen und als hauptsächlichste Teile Magnesium (15,9 % der Asche), an Phosphorsäure gebunden, Calcium (2,87 %), Eisen (0,67 %), Phosphorsäure (5,42 %, als P_2O_5) ermittelt.

Die Takadiastase ist fast vollständig löslich im Wasser; jedenfalls verliert sie durch eine einmalige Filtration durch Berzelius-Papier 7,16 % ihrer festen Bestandteile. Am Licht nimmt sie eine schwärzliche Färbung an; gleichzeitig nimmt ihre Wirkungskraft spontan zu.

Die käufliche Maltose — als rein bezeichnet — wurde folgendermaßen gereinigt:

Eine 15 %ige Lösung wurde durch 2 Volumen absoluten Alkohols niedergeschlagen, dann mit salzfreier Tierkohle entfärbt und 2 mal aus Wasser umkrystallisiert. Das erhaltene Produkt besaß fast das gleiche Reduktionsvermögen wie dasjenige von G. Bertrand[1]) und eine spezifische Drehung $\alpha_D = + \frac{4{,}0 \cdot 100\ \text{ccm}}{1{,}0\ \text{g} \cdot 3^d} = + 133{,}3$ bei der Temperatur + 22°. Trotz

[1]) G. Bertrand, Bull. de la Soc. Chim. III. Serie, 35, 1050, 1906.

aller Mühe in der Entaschung der Tierkohle haben wir in unserer Maltose 0,072 °/$_0$ Asche gefunden. Die Lösungen der Maltose wurden mit reinem, 2 mal destilliertem Wasser von der Leitfähigkeit 1,6 bis $2{,}1 \cdot 10^{-6}$ bereitet, dann mit Toluol gesättigt. In unseren Versuchen haben wir die Konzentrationen 0,5 bis 1 °/$_0$ für Maltase und 1 bis 2 °/$_0$ für Maltose angewandt.

Die Dialyse wurde in folgender Weise vorgenommen: Die Kollodiumsäckchen[1]) von 30 cm Länge und 15 mm Durchmesser wurden an einen Jenaer Glaszylinder mittels Kollodium befestigt, in einen Dialysator mit ständiger Wasserzirkulation gebracht und in einem Autoklaven 15 Minuten bei + 115° sterilisiert. Nun brachte man die Takadiastaselösung in das Säckchen und dialysierte 24 Stunden; dann wurde die Lösung weggegossen. Dieser Vorversuch diente dazu, den eventuellen Fehler, bedingt durch die Adsorption der Maltase durch Kollodium, zu beseitigen. Jetzt goß man die zur Dialyse bereiteten Lösungen der vorher mit Toluol gesättigten Takadiastase in den Dialysator und dialysierte gegen reines Wasser, das gleichfalls mit Toluol gesättigt wurde.

Das ursprüngliche Volumen der Fermentlösung vergrößerte sich während der Dialyse ungefähr um 4,8 bis 6,7 °/$_0$ für die 2 °/$_0$ige Lösung und bis 20 °/$_0$ für 1 °/$_0$ige. Wir wollten näher prüfen, ob diese Verdünnung auf die Intensität der Maltasewirkung nicht ohne Einfluß bliebe. Die Tabelle I enthält die Ergebnisse.

Tabelle I.

Temperatur + 40°.

Nummer	Endkonzentrationen der Maltase °/$_0$	Anteil der hydrolysierten Maltose in °/$_0$ in den Endkonzentrationen			
		0,5 °/$_0$		1,0 °/$_0$	
		Hydrolysezeit 3½ Std.	Hydrolysezeit 7 Std.	Hydrolysezeit 3½ Std.	Hydrolysezeit 7 Std.
1	0,10	34,1	51,1	10,7	21,6
2	0,25	29,8	48,9	19,0	51,1
3	0,50	26,5	42,2	20,1	54,1
4	1,00	24,4	42,8	24,8	41,8
5	2,00	20,3	23,7	34,1	45,3

[1]) Drei Schichten des durch die Auflösung von Nitrocellulose (50 g) in 600 ccm absolutem Alkohol und 400 ccm Äther bereiteten Kollodiums.

Man sieht, daß eine Verdünnung von 100 % eine Verminderung der Hydrolyse um 7,9 % verursacht und, was daraus folgt, eine Verdünnung von 20 % die Wirkungskraft der Maltase nur um 1,6 % herabsetzt.

Jede 24 Stunden wurde eine Probe aus dem Dialysator entnommen und der Dialysator auf das gleiche Niveau mit der Außenflüssigkeit Wasser gestellt. Eine solche Probe von 5 ccm wurde mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit 10 ccm der Maltoselösung gemischt; dieses Gemisch wurde in 2 Teile geteilt, von denen der eine zur Kontrolle diente, bei dem die Hydrolyse sofort mit 1 Tropfen 33 %iger Natronlauge unterbrochen wurde, der andere wurde dagegen in den Thermostaten bei + 39° bis + 40° gebracht und dort 3½ Stunden gelassen.

Das Zuckergemisch haben wir nach der Methode von G. Bertrand[1]) bestimmt, den Anteil der hydrolysierten Maltose, um die umständlichen Berechnungen zu vermeiden, nach der graphischen Methode von Porcher[2]) berechnet. Der totale Fehler (Zuckerbestimmung, Verdünnung während der Dialyse, Berechnung des hydrolysierten Teils) überschritt in unseren Versuchen nicht 4 %. Die Tabelle II enthält die wichtigsten Ergebnisse.

Tabelle II.

Maltose 0,5 % (Endkonzentration); Maltase 1 % (Endkonzentration); Hydrolysezeit 3½ Std.; Temperatur + 39,5°.

Nr.	Dauer der Dialyse Std.	Feste Bestandteile der Maltase %	Mineralbestandteile der Maltase %	Reduktionskraft der Maltase %	Alkalinität in n/100-H_2SO_4 f. 0,2 g Maltase ausgedrückt ccm	Hydrolysierter Anteil der Maltose %
1	0	92,84	6,10	81,3	9,7	30,1
2	24	—	—	—	—	100,0
3	48	—	—	—	—	95,7
4	72	—	—	—	—	85,6
5	96	5,10	1,46	0,0	1,1	85,9

Wir sehen, daß sich durch die 24 stündige Dialyse zuerst die Wirksamkeit der Takadiastase verdoppelt, dann vermindert sie sich ein wenig und schließlich bleibt sie um 180 % größer als die ursprüngliche. Es ist klar, daß die Takadiastase eine dem

[1]) G. Bertrand, Bull. de la Soc. Chim. III. Serie, 35, 1050, 1906.
[2]) Porcher, ibid. III. Serie, 33, 1285, 1905.

Ferment schädliche Substanz enthielt, die rasch eliminiert wurde, daß dann aber die Wirksamkeit der Takadiastase sich durch das weitere Verschwinden (vielleicht der Salze) erniedrigte. Gleichzeitig sind die gesamten, die Fehlingsche Lösung reduzierenden Substanzen durch die Dialyse entfernt.

Es ist sehr interessant, festzustellen, daß durch die Dialyse 94,5 % der gesamten festen Bestandteile und 74,4 % der Asche eliminiert wurden. Man sieht, daß die Wirkungskraft der Fermente an infinitesimale Mengen der bekannten Fermentpräparate haftet und daß die Fermente als wirkliche Katalysatoren ihrer Definition nach „in kleinsten Mengen die größten Umwandlungen hervorrufen". In unserem Falle sind 0,25 mg der Maltase imstande, die 400fache Menge der Maltose zu hydrolysieren.

Schließlich konstatierten wir, daß unter diesen Versuchsbedingungen die Maltase durch die Dialyse nicht inaktiviert werden könnte. Wir haben deshalb versucht, die Durchlässigkeit der Kollodiummembran zu vergrößern und fertigten Kollodiumsäcke, die durch Eisessig angesäuert wurden, an. Wir haben damit folgende Ergebnisse bekommen (Tabelle III).

Tabelle III.

Maltose 0,5 % (Endkonzentration); Maltase 1 % (Endkonzentration); Dauer der Hydrolyse $3^1/_2$ Std.; Temperatur + 39,0°.

Nummer	Dauer der Dialyse Std.	Anteil d. hydrolys. Maltose	
		Membran (angesäuert) %	Membran (gewöhnlich) %
1	0	27,4	27,4
2	24	66,1	100,0
3	48	59,7	97,4
4	72	48,5	96,0
5	96	38,0	91,0

Man kann leicht aus der Tabelle ersehen, daß durch die Dialyse mit angesäuertem Kollodium die Takadiastase langsam ihre hydrolytischen Eigenschaften verliert. Jedoch hat uns die Konzentration im luftverdünnten Raume bei + 35° der gesammelten Außenwässer gezeigt, daß es sich nicht um eine Demineralisation, sondern um einen Durchgang der Maltase ins äußere Wasser handelte.

Die Dialysen mit den angesäuerten Takadiastase-Lösungen (Säure in der optimalen Konzentration angewandt) haben auch keine positiven Resultate gegeben. Durch den Zusatz von HCl in einer Endkonzentration $^1/_{200}$ n hat man nach 48 Stunden der Dialyse eine Vergrößerung der hydrolysierten Kraft der Maltase beobachtet, und zwar um 28%. Wenn wir dieses Ergebnis mit unseren früheren vergleichen, sehen wir, daß es ungefähr 3 mal kleiner ist als mit der gewöhnlichen undialysierten Maltase. Es ist möglich und höchst wahrscheinlich, daß eine nicht unbedeutende Menge der Säure zur „Neutralisation" der durch die Dialyse eliminierten Substanzen diente.

Durch die Messungen der elektrischen Leitfähigkeit der Takadiastase-Lösungen haben wir konstatiert, daß die ursprüngliche Leitfähigkeit $K = 81{,}8 \cdot 10^{-6}$ nach 96 Stunden der Dialyse auf $K = 11{,}9 \cdot 10^{-6}$ herabgesetzt wurde.

Um diejenigen Substanzen, die diese relativ hohe Leitfähigkeit verursachen, zu entfernen, haben wir die sog. „elektrische Dialyse" von Dhéré[1]) angewandt. In Wirklichkeit ist es nicht nur eine Dialyse, sondern die Dialyse mit elektrischer Überführung und Elektrolyse verbunden.

Wir haben zu diesem Zwecke eine H-förmige Jenaer Glasröhre gebraucht; an beiden Enden wurden 2 Kollodiumsäckchen (siehe oben) von 20 mm Diameter und 12 cm Länge befestigt; man füllte die „H"-Röhre vollständig mit der schon durch gewöhnliche Dialyse gereinigten Takadiastase und verstopfte mit zwei vaselinierten Kautschukpfropfen die oberen Öffnungen. Auf diese Weise verhinderte man die Filtration durch die Kollodiummembran, die weder durch Denitrifikation (durch Schwefelammonium) noch durch Sterilisation beseitigt werden konnte. Nachher brachte man die Kollodiumsäckchen in 2 Jenaer Bechergläser (300 ccm), mit Wasser von einer Leitfähigkeit $K = 0{,}8$ bis $1{,}1 \cdot 10^{-6}$ gefüllt. In diese Bechergläser brachte man 2 Platinelektroden (4,8 qcm Oberfläche) und bewirkte eine Potentialdifferenz von 110 Volt. Das Wasser in den Bechergläsern wurde 4 mal täglich erneuert.

Nach der 6. Stunde der Dialyse besaß das Wasser in dem positiven Becherglas eine deutlich alkalische Reaktion (Helian-

[1]) Dhéré, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 150, 934 u. 993, 1910.

thin), in dem negativen eine schwach saure; nach 24 Stunden der Dialyse war das äußere Wasser neutral. Während der Dialyse wanderte die Takadiastase zum negativen Pol: die Lösung, im positiven Arm des Rohrs anfangs opalisierend, klärte sich allmählich und wurde schließlich vollständig durchsichtig.

Die elektrische Dialyse dauerte 126 Stunden. Nach dieser Zeit wurde der Durchgang der Elektrolyte in das äußere Wasser vollständig aufgehoben, was durch die Messungen der Leitfähigkeit festgestellt wurde (Tabelle IV).

Tabelle IV.

Nr.	Dauer der Dialyse Std.	Die elektrische Leitfähigkeit in den Teilen (äußeres Wasser): positiver	negativer	Kontrolle
1	1—6	$13{,}06 \cdot 10^{-6}$	$9{,}52 \cdot 10^{-6}$	$1{,}85 \cdot 10^{-6}$ (Nr. 1–3)
2	24—30	$7{,}56 \cdot 10^{-6}$	$5{,}29 \cdot 10^{-6}$	
3	48—54	$4{,}01 \cdot 10^{-6}$	$4{,}85 \cdot 10^{-6}$	
4	72—78	$2{,}89 \cdot 10^{-6}$	$3{,}15 \cdot 10^{-6}$	0,8 bis $1{,}1 \cdot 10^{-6}$ (Nr. 4–6)
5	96—102	$1{,}63 \cdot 10^{-6}$	$2{,}01 \cdot 10^{-6}$	
6	120—126	$1{,}28 \cdot 10^{-6}$	$1{,}78 \cdot 10^{-6}$	

In einem Kontroll-Becherglas, das mit dem Wasser von einer Leitfähigkeit $K = 0{,}9 \cdot 10^{-6}$ gefüllt und unter denselben Bedingungen wie zwei andere gelassen wurde, haben wir nach 6 Stunden die Leitfähigkeit $K = 1{,}7 \cdot 10^{-6}$ konstatiert. Es scheint uns vollständig überflüssig, weiter zu dialysieren.

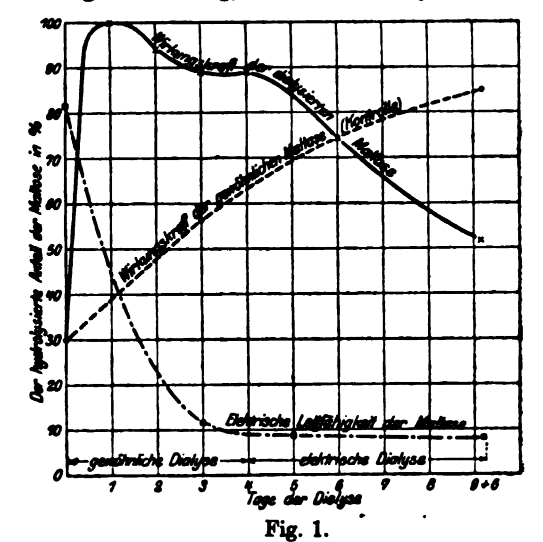


Fig. 1.

Mittels einer Pipette wurde die Flüssigkeit der zwei oberen Arme bis zur seitlichen Verbindung weggenommen, dann der Rest sorgfältig in 3 Teile geteilt — seitlicher, positiver und negativer Anteil.

Die Eigenschaften der so erhaltenen Lösungen der Takadiastase schildert Tabelle V.

Tabelle V.

Maltose 1,0% (Endkonz.); Maltase 0,5% (Endkonz.); Dauer der Hydrolyse 3½ Std.; Temperatur +40,5°.

Nr.	Lösungen der Maltase	Feste Bestandteile bei +110° der Maltase %	Asche der Maltase %	Acidität (—) bzw. Alkalinität (+) gegen Helianthin in $^{n}/_{100}$-H_2SO_4 für 0,2 g Maltase ccm	Elektrische Leitfähigkeit der Maltaselösungen	Wirkungskraft der Maltase %
1	Maltase 2 mal filtriert d. Berzelius-Papier .	93,12	6,12	+ 9,8	$81{,}3\cdot 10^{-6}$	30,4
2	Maltase 2 mal filtriert u. 72 Std. gelassen	92,85	6,13	+ 10,6	$205{,}7\cdot 10^{-6}$	61,8
3	Maltase 2 mal filtriert u. 198 Std. gelassen	93,41	6,08	+ 11,5	$205{,}9\cdot 10^{-6}$	85,7
4	Maltase 72 Std. dialys.	5,23	1,58	+ 1,2	$11{,}9\cdot 10^{-6}$	89,8
5	Maltase 72 Std. dialys. u. 126 Std. gelassen	5,25	1,56	+ 1,3	$15{,}8\cdot 10^{-6}$	97,2
	Maltase 48 Std. durch elektr. Dialyse gereinigt:					
6	Positiver Arm . . .	0,57	unbestimmbar [1])	—	$5{,}2\cdot 10^{-6}$	71,9
7	Negativer Arm . .	3,93	0,32	—	$19{,}3\cdot 10^{-6}$	100,0
8	Seitlicher Arm . .	unbestimmbar [1])	unbestimmbar [1])	—	$3{,}8\cdot 10^{-6}$	49,2
	Maltase 126 Std. durch elektr. Dialyse gereinigt:					
9	Positiver Arm . . .	—	—	— 1,0	$2{,}6\cdot 10^{-6}$	56,7
10	Negativer Arm . .	3,85	unbestimmbar [1])	+ 1,2	$18{,}5\cdot 10^{-6}$	78,3
11	Seitlicher Arm . .	—	—	+ 0,5	$1{,}4\cdot 10^{-6}$	19,5

[1]) Unbestimmbar in 60 ccm der Flüssigkeit oder für 0,0615 g der festen Bestandteile.

Nehmen wir die mittlere Leitfähigkeit und die mittlere Wirkungskraft der 3 Arme, so können wir eine Kurve zeichnen, die deutlich den Einfluß der Dialyse auf die Wirkung der Maltase wiedergibt (Fig. 1).

Zusammenfassung.

1. Die gewöhnliche Dialyse vergrößert die Wirkungskraft der Maltase der Takadiastase; diese Wirkungskraft erreicht ein Maximum, vermindert sich dann leicht, um zuletzt (nach 72 Stunden der Dialyse) keine Änderung mehr zu erleiden. Gleichzeitig sind die reduzierenden Substanzen und 74,4 % Asche, im ganzen 94,73 % feste Bestandteile, eliminiert.

2. Die in diesem Momente angewandte elektrische Dialyse entfernt noch ein Quantum der Mineralbestandteile und organischen Substanzen und vermindert gleichzeitig die Wirkungskraft der Maltase. Jedenfalls zeigt die relativ hohe Leitfähigkeit des positiven Schenkels der Flüssigkeit $K = 18{,}5 \cdot 10^{-6}$, daß nicht alle Elektrolyte entfernt sind.

3. Die Maltase wandert zum negativen Pol.

4. Die durch elektrische Dialyse gereinigte Maltase besitzt eine gegen Helianthin schwach saure Reaktion.

Über Veränderungen des Serums nach Chloroform- bzw. Äthereinwirkung.

Von

R. Baß und E. Klausner.

(Aus dem Serologischen Institut der k. k. deutschen dermatologischen Universitätsklinik in Prag.)

(Eingegangen am 5. September 1913.)

Bei Versuchen über den Ablauf gewisser Immunitätsreaktionen in Abwesenheit der physiologischen Serumlipoide, haben wir Beobachtungen über besondere Wirkungen des Chloroforms und des Äthers auf menschliche Seren gemacht, die uns besonders deshalb von größerem Interesse zu sein scheinen, weil sie für ein klinisch beobachtetes Phänomen, nämlich die positive Komplementbindungsreaktion im Serum Narkotisierter, eine ausreichende Erklärung gewähren. Wir wollen in folgendem über diese Beobachtungen berichten.

I. Versuche über direkte Einwirkung des Äthers auf Serum.

Die Behandlung des Serums mit Äther geschah in unseren ersten Versuchen in der Weise, daß das Serum in einer hohen Eprouvette wiederholt mit Äther durchgeschüttelt wurde. (Die verwendeten organischen Lösungsmittel waren in diesen, wie in allen anderen Versuchen vor ihrer Verwendung gründlich mit Wasser gewaschen worden.). Später, als sich zeigte, daß nicht die Entfernung der lipoiden Serumbestandteile, vielmehr der innige Kontakt des Narkoticums mit dem Serum die wirksame Komponente darstellte, gingen wir einfach so vor, daß wir das Serum in einer flachen Schale ausgebreitet mit Äther überschichtet etwa 12 Stunden stehen ließen. Nach beendeter Einwirkung wurde der Äther durch einen im scharfen Strahl (durch eine Pipette) auf die Oberfläche des Serums geleiteten Luftstrom wieder entfernt.

Zu einem so behandelten Serum fügten wir (wie auch in den folgenden Versuchen) 0,05 ccm Meerschweinchenkomplement und 1 ccm einer 5 $^0/_0$ igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung, sensibilisiert mit dem $2^1/_2$ fachen einer in 30 Min. glattlösenden Amboceptormenge.

Versuch 1 und 2.

Das Serum eines nicht luetischen Patienten wird 5 mal je 10 Min. mit Äther am Schüttelapparat geschüttelt. Jedesmal bei Erneuerung des Äthers wird eine Probe des Serums entnommen und in der Menge von 0,1 ccm auf Selbsthemmung geprüft.

Lö. = Lösung, He. = Hemmung.

	I.	II.
1. Probe nach 10 Min.	kompl. Lö.	kompl. Lö.
2. „ „ 20 „	kompl. He.	kompl. Lö.
3. „ „ 30 „	kompl. He.	kompl. He.
4. „ „ 40 „	kompl. He.	kompl. He.
5. „ „ 50 „	kompl. He.	kompl. He.

Der gleichzeitig in der rechten Kolonne angeführte Versuch 2 betrifft ein Wassermann hochpositives Luesserum.

6 weitere Normalseren und 4 Luesseren ließen sich in derselben Weise selbsthemmend machen, ohne daß wir einen auffallenden Unterschied zwischen den Seren luetischer oder nicht luetischer Individuen hätten feststellen können.

Versuch 3.

Je ein normales und ein Luesserum werden 12 Stunden mit Äther überschichtet und hierauf der Äther aus dem Serum, wie früher angegeben, entfernt.

Serummenge	0,01	0,03	0,05	0,1	0,2
Normalserum mit Äther behandelt	Lös.	part. He.	He.	He.	He.
Luesserum mit Äther behandelt	part. He.	He.	He.	He.	He.

Unbehandeltes Norm.-Serum in der Menge 0,3 . . . . . . kompl. Lö.
Luesserum „ „ „ . . . . . . Spur He.

II. Wirkung des Chloroforms.

Das Serum wurde in einer flachen Glasschale mit chemisch reinem und gewaschenem Chloroform überschichtet und ca. 5 Stunden zugedeckt stehen gelassen. Man beobachtet hierbei regelmäßig, daß sich das Serum nach kurzer Zeit milchig trübt. Diese Trübung ist teilweise dadurch hervorgerufen, daß sich das Chloroform spontan emulgiert, beziehungsweise in die Eiweißphase eindringt, denn die Entfernung des Chloroforms durch den Luftstrom führt wieder zu einer erheblichen Aufhellung. Zum anderen Teile handelt es sich um eine Fällung von Serumbestandteilen.

Versuch 4.

Hämolytisches System in diesem Versuche ausgewertet auf Lösung nach 15 Min. bei Anwesenheit von 0,1 Komplement.

Mengen des mit Chloroform behandelten Serums	0,1	0,03	0,07	0,1	0,3
	part. He.	He.	He.	He.	He.

Weitere Versuche gaben in gleicher Weise das Resultat, daß das Chloroform in intensivem Maße die Fähigkeit besitzt, die Seren selbsthemmend zu machen.

Es wurden dann die Wirkungen anderer Extraktionsmittel untersucht.

Versuch 5.

Wirkung des Toluols.

Behandlung des Serums wie beim Chloroform angegeben.

Mengen des Serums von 0,1 und 0,3 zeigten keine Beeinflussung der Hämolyse. Kontrolle ohne Meerschweinchenkomplement bei 0,3 ccm Spur Hämolyse. Das Serum enthielt also nach der Toluoleinwirkung noch Spuren Komplement.

In diesen sowie in anderen Versuchen ließ die Toluolwirkung keine Selbsthemmung entstehen.

Versuch 6.

Petroläther.

0,1 und 0,2 des mit Petroläther extrahierten Serums hatten keine hemmende Wirkung. Bei 0,3 zeigte sich partielle Hemmung.

Nur also den „narkotischen" Extraktionsmitteln, dem Chloroform und dem Äther, kommt in ausgesprochenem Maße die Eigenschaft zu, die Seren im beschriebenen Sinne zu verändern.

III. Einfluß der Inaktivierung auf künstlich hemmend gemachte Seren.

Serum mit Chloroform behandelt.

Mengen	0,03	0,04	0,05	0,1
	He.	He.	He.	He.

Dasselbe inaktiviert. 30 Min. 56 Sek.

Mengen	0,1	0,3	0,5
	Lös.	Lös.	Lös.

Ebenso verhielten sich die ätherbehandelten Seren. Es zeigt sich, daß die durch Chloroform oder Äther intensiv selbsthemmend gemachten Seren durch Inaktivieren diese Eigenschaft wieder völlig verlieren.

IV. Beeinflussung inaktivierter Seren.

Bei inaktivierten Seren wurden mit Chloroform oder Äther in der gewöhnlichen Weise vorbehandelt. Wir fanden, daß nunmehr eine Beeinflussung im Sinne einer Selbsthemmung nicht zu erzielen war.

Versuch 8.

Ein aktives Serum mit Äther behandelt, hemmt die Hämolyse in der unteren Grenzdosis von 0,03. Dasselbe ganz parallel im inaktiven Zustande der Äthereinwirkung ausgesetzt

Mengen	0,1	0,2	0,3
	Lös.	Lös.	Lös.

Zahlreiche Versuche ergaben dasselbe Ergebnis für das Chloroform.

V. Versuche, die Hemmungswirkung der Seren wieder rückgängig zu machen.

Es gelang weder durch direkten Zusatz von Lipoiden (Lecithin, Cholesterin, Serumlipoide) noch durch Zusatz von inaktiviertem Normalserum, die einmal gewonnene Fähigkeit der Selbsthemmung nach Chloroform oder Ätherwirkung einem Serum wieder zu nehmen.

VI.

Von einem mit Chloroform vorbehandeltem Serum werden aufsteigende Mengen mit 0,05 Komplement gemischt und 30 Min. im Thermostaten aufeinander wirken gelassen. Hierauf wird das hämolytische System zugefügt, während in einer Vergleichsserie die 3 Komponenten direkt gemischt werden.

I. Reihe: Serum mit 0,05 Komplement 30 Min. im Thermostaten.

II. Reihe: Komplement mit hämolytischen System direkt zugesetzt.

Serummengen	0,01	0,02	0,03	0,04
I.	He.	He.	He.	He.
II.	Lös.	Lös.	He.	He.

Durch vorherige Digestion des stark hemmenden Serums mit dem Komplement wird die Menge des Serums, die eine bestimmte Komplementmenge gerade noch unwirksam macht, erheblich herabgesetzt.

VII.

Wir haben weitere Versuche angestellt, die den Einfluß unserer Hemmungsseren auf andersartige serologische Phänomene feststellen sollten, ohne daß wir bisher

über ausreichend große Versuchsserien in dieser Richtung verfügen. Es zeigte sich beispielsweise, daß die spezifische Agglutination von Typhusbacillen, desgleichen wie die Agglutination von Kaninchenblutkörperchen durch inaktives Rinderserum unbeeinflußt blieb. Bei diesen Vorgängen scheint also das Komplement überhaupt keine Rolle zu spielen.

VIII. Über experimentell erzeugte Komplementbindungsreaktion.

Wolfsohn und Reicher sowie spätere Untersucher konnten zeigen, daß in einer gewissen Zahl von Fällen nach Äther- oder Chloroformnarkose eine positive Komplementbindungsreaktion auftritt. Wir haben in unseren bisherigen Versuchen lediglich Selbsthemmung im Serum hervorrufen können. Um nun Seren mit positiver Komplementbindungsreaktion zu bekommen, haben wir uns bemüht, eine Versuchsanordnung zu treffen, welche die natürlichen Verhältnisse bei der Narkose möglichst nachahmt. Wir gingen so vor, daß durch das Serum (ca. 6 ccm), das sich in einer kleinen Waschflasche befand, langsam Luft durchgeleitet wurde, das vorher eine mit Chloroform gefüllte Waschflasche passieren mußte. Diese Versuchsanordnung hat sich insofern als glücklich erwiesen, als man auf diese Weise am sichersten zu positiv reagierenden Seren gelangen kann.

Versuch 10.

Die Komplementbindungsreaktion wurde in der im Serologischen Institute üblichen Weise angestellt. 0,1 ccm des zu untersuchenden Serums, 0,05 Komplement, 0,1 Antigen (alkoholischer Menschenherzextrakt) 1 Stunde im Thermostaten und hierauf Zugabe von 1 ccm einer 5%igen Hammelblutkörperchenaufschwemmung, sensibilisiert mit der $2^1/_2$fachen Dosis des in 30 Minuten lösenden Amboceptors. Als Serumkontrolle wurde die doppelte Serummenge verwendet.

Das Serum eines nichtluetischen Patienten wurde 18 Stunden lang mit Chloroformluft durchlüftet.

Chloroformserum	0,1 + Kompl. + Ant.	He +++
„	0,1 + Kompl.	Lös. kompl.
Normalserum	0,1 + Kompl. + Ant.	„ „
„	0,1 + Kompl.	„ „

Sechs weitere Versuche ergaben das gleiche Resultat, d. h. absolute Hemmung, bei kompletter Lösung der Kontrollen, während in einem Versuche die Hemmung nur eine partielle war.

Bei einem Kontrollversuch, in dem, anstatt das Antigem mit dem Komplement 1 Stunde im Wärmschrank digerieren zu lassen, alle Komponenten direkt gemischt wurden, erhielten wir Lösung.

IX.

Äther erweist sich bei ähnlich angestellten Durchlüftungsversuchen als weniger wirksam. Hingegen gelingt es dadurch, daß man die Ätherwirkung abstuft, gleichfalls zu positiven Resultaten zu gelangen.

Versuch 11.

Ca. 3 ccm Serum wurden mit Äther in einer Uhrschale überschichtet und zugedeckt 2 Stunden stehen gelassen. Das Serum zeigte nach Entfernung des Äthers bei derselben Versuchsanordnung wie in den vorigen eine sehr stark positive Komplementbindungsreaktion.

Wir gingen dann dazu über, das Serum in einer anderen Form der Einwirkung von Chloroformdämpfen auszusetzen. Das geschah so, daß mehrere Kubikzentimeter Serum in einem Uhrgläschen in eine zugedeckte Petrischale gebracht wurde, deren Boden mit Chloroform beschickt war. Hierbei beobachtet man ebenfalls, daß sich das Serum nach 1 bis 2 Stunden leicht trübt. Die Wirkung des Chloroformdampfes erweist sich hierbei als weitaus intensiver, da wir nach der angegebenen Zeit Selbsthemmung der Versuchsseren fanden.

X. Einfluß der Inaktivierung auf die experimentelle Komplementbindungsreaktion.

Ein Serum, das in der zuletzt angegebenen Weise der Einwirkung von Chloroformdampf ausgesetzt war, wurde in das Inaktivierungsbad von 56° eingesetzt und nach je 5 Minuten eine Probe entnommen, mit der dann die Komplementbindungsreaktion angestellt wurde.

	I.	II.
Vor Inaktivierung . .	Selbsthemmung	Selbsthemmung
5 Minuten inaktiviert	W. R. +++	W. R. +++
10 „ „	W. R. ++	Lös.
15 „ „	Lös.	„
20—30 Minuten „	„	„

Es gelingt danach, Seren, die nach der angegebenen Behandlung selbsthemmend geworden waren, durch eine kurze Inaktivierung zu W. R. positiven Seren zu machen. Das dürfte wohl für alle Arten künstlich selbsthemmend gemachte Seren

gelten. Andererersits zeigen diese, wie auch viele übereinstimmende und nicht besonders angeführte Versuche, daß halbstündiges Erwärmen auf 56° die experimentell erzeugte Komplementbindungsreaktion wie die Selbsthemmung zum Verschwinden bringt.

Fassen wir die gewonnenen Resultate zusammen, so gelingt es also mit völliger Regelmäßigkeit, einem jeden Serum durch Behandlung mit Chloroform oder Äther in intensivstem Maße die Eigenschaft der Selbsthemmung zu verleihen in dem Grade, daß die 10fache Menge Meerschweinchenkomplement unwirksam gemacht werden kann, während bei abgestufter Einwirkung eine stark positive Komplementbindungsreaktion hervorgerufen wird. Was die Selbsthemmung betrifft, so ist über dieses interessante Phänomen bisher noch nicht allzuviel bekannt. Man weiß wohl, daß Seren bei längerer Aufbewahrung im Eisschrank autohemmend werden. Diese Veränderungen sind jedoch, wie Hara[1]) im Institute Dungerns gezeigt hat, lediglich auf das Wachstum von Bakterien zurückzuführen. Pick und Přibram[2]) fanden, daß man Luesseren mit stark positiver Wassermannscher Reaktion durch Ätherextraktion selbsthemmend machen kann, während normale Seren sich gar nicht veränderten. Sie deuten diesen Befund so, daß durch die Entfernung von Lipoiden die den luetischen Seren an und für sich anhaftende Neigung, die Hämolyse zu hemmen, in gesteigertem Maße aktiviert wird. Unsere Befunde widersprechen diesem Resultate, gleichwie dessen Bedeutung in vielen Punkten, was wohl auf die differente Arbeitsmethodik zurückzuführen sein dürfte.

Fraglos scheint es zu sein, daß die im Serum von uns gefundenen Veränderungen nicht auf einer Extraktion der Lipoide, sondern vielmehr auf einer besonderen Beeinflussung der Serumkolloide beruhen. Beweis dafür ist, daß durch die Inaktivierung physikalisch veränderte Seren in dem Sinne einer Selbsthemmung oder positiven Komplementbindungsreaktion nicht mehr zu verändern sind, weiter daß nicht alle lipoid-

[1]) Hara, Untersuchungen über die Eigenhemmung der Sera. Zeitschr. f. Imm. 17, 209.

[2]) E. P. Pick und E. Přibram, Beitrag zur Kenntnis usw. Diese Zeitschr. 11, 418.

löslichen Agenzien wirken, ferner der Umstand, daß Chloroformdämpfe allein schon wirken, schließlich daß Lipoidzusatz die einmal eingetretene Umwandlung in keiner Weise wieder rückgängig macht. Daß Verunreinigungen aus dem Lösungsmittel oder gar die Anwesenheit des Lösungsmittels selbst eine Rolle spielen könnten, war ohne weiteres auszuschließen.

Man muß sich davor hüten, den normalen und pathologischen Serumlipoiden allzu wichtige Funktionen zuzuschreiben, wenn auch sichergestellt ist, daß sie bei manchem serologischen Phänomenen eine bedeutende Rolle spielen. So sei daran erinnert, daß die sog. Klausnersche Fällungsreaktion im Serum von Luetikern unter der Mitwirkung von Lipoiden zustandekommt (Klausner[1]). In Abwesenheit der physiologischen Serumlipoide tritt beispielsweise die Globulinfällung durch Dialyse sehr verspätet ein (Baß[2]). Ob jedoch bei den geschilderten Wirkungen des Chloroforms und des Äthers die Lipoidstoffe beteiligt sind, wagen wir nicht zu entscheiden. Es kann sich ebensogut um eine direkte Wirkung auf das Eiweißkolloid, wie um eine Störung der physiologischen Lipoideiweißbeziehungen handeln.

Es ist wohl sehr wahrscheinlich, daß die Komplementbindungsreaktion, die wir besonders leicht durch Chloroform, aber ebenso auch durch Äther im Serum Gesunder hervorrufen konnten, mit der Reaktion, die man häufig nach der Narkose beobachtet, identisch ist. Die Deutung, die man diesem Phänomen bisher allgemein gegeben hat: daß Lipoide aus dem Nervensystem ausgeschwemmt werden und sie bewirken, wird danach wohl besser aufzulassen sein. Mit der Anwesenheit des Chloroforms in der untersuchten Probe hat sie wohl gleichfalls nichts zu tun[3]).

[1]) Klausner, diese Zeitschr. 47, Heft 1.

[2]) Baß, Prager med. Wochenschr. 1012, S. 407.

[3]) Nach Fertigsetzung dieser Arbeit finden wir in der letzten Nummer der Münch. med. Wochenschr. Nr. 34 vom 26. August ein kurzes Referat über einen Vortrag von Ernst Fränkel in Heidelberg, dem es gelungen ist, durch Chloroform ein Serum positiv reagierend zu machen. Auch er bezieht dies anscheinend auf die Anwesenheit des Chloroforms. Seine Angabe, daß „Äther keinen Einfluß auf die Komplementhämolyse zeigt“, trifft nach unseren Versuchen nicht zu, ebenso dürfte Fränkels Annahme, „daß das Chloroform durch Zerstörung des Komplements zu einer Hemmung des hämolytischen Systems führt“, nicht stichhaltig sein.

Von der luetischen Komplementbindung unterscheidet sich die experimentell hervorgerufene Reaktion nur durch eine relativ gesteigerte Thermolabilität, die ja der ersteren in gewissem Grade ebenfalls zukommt. Wir möchten aber dennoch glauben, daß in ihrem Wesen beide auf einer gleichartigen Umwandlung der Serumeiweißkörper beruhen, die das eine Mal durch Chloroform, das andere Mal durch die Syphilis bewirkt ist, auf Grund folgender Vorstellung: Man kann die Eiweißkörper des Serums, insbesondere die Globuline für sich, als eine kontinuierliche Reihe auffassen, deren Glieder sich noch innerhalb der einzelnen Fraktionen durch den Grad ihres Ladungssinnes, durch ihre Lipoidflockbarkeit, durch ihre Säurefällbarkeit, endlich durch ihre Thermolabilität graduell unterscheiden. Die labilsten Anteile des Euglobulins werden durch die Inaktivierungstemperatur besonders stark verändert, während die dem Albumin mehr genäherten Anteile beständiger sind. Man kann dies sehr leicht demonstrieren, wenn man vergleichshalber ein 60 Minuten bei 56° inaktiviertes und ein natives Serum, am besten durch Kollodiumsäcke, dialysiert. Das inaktive Serum benötigt eine etwa 20 mal längere Zeit als das Nativserum, bevor die Flockung beginnt, ja es flockt gelegentlich überhaupt nicht aus (Baß, l. c.). So möchten wir nun glauben, daß das Chloroform und der Äther auf die thermolabilen Anteile des Globulins wirken, während die luetische Komplementbindungsreaktion wohl auf einer gleichartigen Veränderung beruht, die jedoch an einer stabileren Euglobulinkomponente stattgefunden hat, welch letztere entsprechend dem Gesagten durch die Temperatur von 56° weniger beeinflußt wird.

Über die normale Höhe des Blutzuckergehalts bei Kaninchen und Hunden.

Von

A. Loewy und S. Rosenberg in Berlin.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 11. September 1913.)

Im 87. Bande der Zeitschrift für physiolog. Chemie erschien vor kurzem eine Arbeit von E. Hirsch und H. Reinbach, die sich mit der Frage beschäftigt, inwieweit der normale Blutzuckergehalt des Kaninchens durch „Aufbinden, Fesseln und geringfügige Eingriffe wie Freilegung der Carotis und Einbinden einer Kanüle unter den schonendsten Maßnahmen" beeinflußt wird. — Die Autoren fanden, daß die genannten Momente zu einer oft bedeutenden Hyperglykämie, ja selbst zu einer beträchtlichen Glucosurie führen. Sie stellen in Aussicht, analoge Untersuchungen auch an Hunden auszuführen. Wir selbst haben seit etwa Jahresfrist eine sehr große Zahl von Blutzuckerbestimmungen — und zwar alle nach der gleichen Methode — an Kaninchen und Hunden ausgeführt zur Entscheidung einer Frage, über die wir demnächst berichten werden. Wir entnahmen allemal aus einer Carotis oder Femoralis 20 bis 50 ccm Blut, enteiweißten nach Rona-Michaelis und stellten den Blutzuckergehalt am eingeengten Filtrat polarimetrisch fest. Wir fanden dabei ebenso wie Hirsch und Reinbach beim Kaninchen Werte, die einerseits unter sich starke Differenzen zeigten und andererseits die als normal angesehenen Blutzuckerwerte häufig erheblich übertrafen.

Aber nicht nur beim Kaninchen konstatierten wir dieses Verhalten, sondern es fand sich auch beim Hunde ausgesprochen. Allerdings stiegen die Blutzuckerwerte hier im

allgemeinen nicht ganz so hoch wie beim Kaninchen, bei dem wir vereinzelt Werte bis zu 0,4 % D gefunden haben. Immerhin fanden wir wiederholt Werte, die zwischen 0,2 bis 0,23 % D lagen.

Da unsere höchsten Werte allemal bei Hunden sich fanden, die bei der Operation (Arteriotomie) sehr unruhig waren, zappelten und heulten, also Zeichen starker sensibler Reizung darboten, so lag der Gedanke nahe, daß, wie die beabsichtigte Reizung sensibler Nerven, so auch die mit dem operativen Eingriff verbundenen Schmerzauslösungen zu einer Steigerung des Blutzuckergehalts führen könnten.

Zur Prüfung dieser Frage machten wir vergleichende Bestimmungen ohne und mit Lokalanästhesie. Letztere wurde herbeigeführt durch Injektion (bis zu 5 ccm) einer Lösung von 1 g Novocain in 100 g Leitungswasser.

Die Ergebnisse zeigen unzweideutig, daß beim Hunde die Ausschaltung des Schmerzes (und das ist wohl auch beim Kaninchen das wesentlichste Moment) nie so hohe Blutzuckerwerte zustande kommen ließ, wie wir sie oft ohne Anästhesie fanden. Sie lagen vielmehr stets auf einem Niveau, das dem gewöhnlich als Norm angesehenen Prozentsatz entspricht.

Tabelle.

Hund Nr.	Blutzucker %	Bemerkungen
1 a)	0,10	ohne Anästhesie (a, b)
b)	0,20	
2 a)	0,20	ohne Anästhesie (a, b)
b)	0,185	
c)	0,18	Lokalanästhesie
3 a)	0,20	ohne Anästhesie, Hund heult (a, b)
b)	0,22	
4 a)	0,28	ohne Anästhesie
b)	0,12	Lokalanästhesie
5 a)	0,15	Lokalanästhesie (a, b, c)
b)	0,14	
c)	0,13	
6 a)	0,17	ohne Anästhesie
b)	0,114	Lokalanästhesie
c)	0,14	do.

Die beistehende Tabelle gibt eine Reihe der von uns gewonnenen Werte. Zu ihr ist zu bemerken, daß die verschiedenen am selben Tiere vorgenommenen Blutzuckerbestimmungen eine bis mehrere Wochen auseinanderlagen. Es ergibt sich, daß die ohne Anästhesie erhaltenen Werte zuweilen innerhalb der bei Lokalanästhesie gefundenen Grenzen liegen. Häufiger aber überschreiten sie diese, so daß bei demselben Individuum Schwankungen um 100 % vorkommen können (vgl. Hund 1 und 4). Die ohne Anästhesierung gewonnenen Blutzuckerwerte sind demnach mit erheblichen Unsicherheiten behaftet.

Demgegenüber schwanken die Werte bei Lokalanästhesie in relativ engen Grenzen; in minimo fanden wir 0,114 %, in maximo 0,15 % D.

Dabei bleibt es fraglich, ob die höheren dieser Werte nicht vielleicht dadurch bedingt sind, daß die Lokalanästhesie in diesen Fällen keine absolute gewesen ist, was objektiv nicht mit voller Sicherheit anzugeben ist.

Wir müssen demnach auch für den Hund zu dem Schlusse kommen, den Hirsch und Reinbach für das Kaninchen gezogen haben, nämlich daß die Ergebnisse der weitaus überwiegenden Zahl aller bisherigen Experimente, aus denen eine Beeinflussung des Blutzuckergehalts abgeleitet wurde, einer gründlichen Revision bedürfen.

Über kolloidale Metallchloride und Metallsulfate.

Vorläufige Mitteilung.

Von

L. Karczag.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftl. Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 11. September 1913.)

I.

Bei gemeinsam mit E. Kopetschni ausgeführten Versuchen über die Oxysäurechloride[1]) beobachteten wir, daß beim Zusammenbringen von Natriumsalicylat mit Thionylchlorid eine dicke, glasartig durchscheinende gallertartige Masse entsteht, die eine bläuliche Opalescenz aufweist.

Nach der von uns experimentell bewiesenen Reaktionsgleichung

$$C_6H_4\left\langle{COONa \atop OH}\right. + SO\left\langle{Cl \atop Cl}\right. = C_6H_4\left\langle{COCl \atop OH}\right. + NaCl + SO_2$$

entsteht Kochsalz.

Da sich das gemäß obiger Gleichung gebildete Kochsalz nicht krystallinisch ausschied, so wurde das erwähnte Aussehen der Reaktionsmasse offenbar dadurch veranlaßt, daß das Kochsalz in kolloidaler Form auftrat, wovon ich mich, nach Isolation der Substanz, durch die Analyse überzeugen konnte.

Durch ähnliche Manipulationen mit den verschiedenen Metallsalzen der Salicylsäure ist es mir sodann gelungen, in einfachster Weise zu den kolloidalen Chloridverbindungen der Metalle zu gelangen bzw. diese darzustellen. Aber auch Salze anderer

---

[1]) D. R. P. Nr. 262883. Kl. 12o Gr. 11, 1911.

Carbonsäuren, wie z. B. der Benzoesäure, gaben mit Thionylchlorid kolloidale Stoffe.

Die Versuchstechnik ist höchst einfach und läßt sich mit kleinen Substanzmengen, wie bereits erwähnt, in vitro leicht ausführen. Man nimmt die Substanz, übergießt sie vorsichtig mit dem gleichen bis doppelten Volumen Thionylchlorid. War die Reaktion im Anfange sehr heftig (was meistens der Fall ist), so daß durch die gebildete Reaktionswärme ein Teil des leichtflüchtigen Thionylchlorids verdunstet, so sorge man für einen Überschuß durch Hinzufügen einer neuen Menge.

Man kann aber auch umgekehrt die feste Substanz in das Thionylchlorid portionsweise eintragen. Oft scheinen die Substanzen miteinander bei gewöhnlicher Temperatur schwer zu reagieren. Die Reaktion wird dann durch ein gelindes Erhitzen bis zum Sieden eingeleitet.

In einigen Fällen ist es wünschenswert, die Substanzen aufeinander einige Stunden lang wirken zu lassen.

Was das makroskopische Aussehen der kolloidalen Substanzen betrifft, so sind sie teilweise glasartig durchscheinend, farbig irisierend und opalescierend, teilweise milchig getrübt oder auch ganz weiß. Einzelne besitzen die Konsistenz von echten kolloidalen Gallerten, andere wieder die Konsistenz verflüssigter Gelatine. Es gibt auch solche, die in flockiger und bröckeliger Form erhalten werden.

Einige Beispiele möchte ich im folgenden anführen.

1. Natriumsalicylat + Thionylchlorid.

Heftige Reaktion. Es entsteht eine gallertige, glasartig durchscheinende, bläulich opalescierende Masse, die an den Wänden des Reagensglases festsitzt. Ganz besonders schöne und dicke Gallerten erhält man, falls die getrockneten Krystalle des Natriumsalicylats in Thionylchlorid portionsweise bis zur Sättigung eingetragen werden.

2. Calciumsalicylat + Thionylchlorid.

Bei gelindem Erwärmen verschwindet das salicylsaure Calcium und die Flüssigkeit trennt sich in zwei Schichten. Die untere Schicht enthält das kolloidale Calciumchlorid als prächtig in allen Farben irisierende gallertige Masse, die von der darüber stehenden Flüssigkeit durch Dekantieren getrennt werden kann.

3. Magnesiumsalicylat + Thionylchlorid.

Ziemlich langsamer Angriff der Krystalle, die jedoch nach kurzem Erwärmen allmählich verschwinden, wobei die Lösung trüb opalescent wird.

Wie oben bereits erwähnt wurde, besitzt der Aggregatzustand der kolloiden Verbindungen kein bestimmtes oder einheitliches Merkmal. Man kann auch dieselbe Verbindung in verschiedenster Form gewinnen, falls man die Umwandlung des Krystalloids bei Anwesenheit fremder, indifferenter Verdünnungsmittel, wie z. B. Benzol, Ligroin, Petroläther usw., vor sich gehen läßt. Wirken beispielsweise Natriumsalicylat und Thionylchlorid direkt aufeinander, so entsteht das kolloidale Kochsalz in einer dicken, glasartig durchscheinenden gallertartigen Form. Vollzieht sich die Reaktion in Gegenwart von Benzol, so besitzt die kolloidale Substanz das Aussehen und die Konsistenz dicker, verflüssigter Gelatine. Nimmt man jedoch als indifferentes Verdünnungsmittel Ligroin, so entsteht Kochsalz in einer voluminös-bröckeligen Form.

Was nun im allgemeinen die Löslichkeit der kolloidalen Metallchloride betrifft, so ergab sich, daß sich diese in bestimmten organischen, indifferenten Lösungsmitteln größtenteils lösen, durch andere wieder ausgeflockt werden. Die ausgeflockte Substanz löst sich dann im ursprünglichen Lösungsmittel wieder auf, was eine gute Reinigung des Kolloids ermöglicht. Als solche indifferenten Lösungs- bzw. Fällungsmittel dienten: Ligroin, Petroläther, Benzol, Toluol, Amylalkohol, Äther usw.

Oft erleidet aber das Kolloid durch diese Manipulation eine Umwandlung, so daß der Vorgang nicht mehr umkehrbar wird.

Es bleibt zunächst dahingestellt, welchen Umständen die Bildung der kolloidalen Metallchloride zu verdanken ist. Eine Schutzwirkung irgendeines hochmolekularen Kondensationsproduktes kann hierbei wohl ausgeschlossen werden, denn die chemisch untersuchten Produkte dieser Reaktion (Salicylsäurechlorid und eventuell in Spuren gebildetes Salicylid, Salicylosalicylsäure) sind sicher nicht hochmolekular genug, um eine Schutzwirkung auszuüben. Auch sind die eventuell ebenfalls in Spuren gebildeten Polysalicylide resp. Polymere des Salicylsäureanhydrids auszuschließen, da man z. B. kolloidales Koch-

salz auch aus Natriumbenzoat und Thionylchlorid erhalten kann, wobei Benzoylchlorid, ein überaus beständiger Körper, gebildet wird, das weder anhydridartige noch polymere Verbindungen bildet. Durch ein Fehlen von Schutzkolloiden wäre der geschilderte Reaktionsmechanismus von dem Michael-Paalschen[1]) zu unterscheiden, wobei bekanntlich als Nebenprodukte hochmolekulare Verbindungen entstehen, die dann als Schutzkolloide funktionieren.

Daß das Vorhandensein von eigentlichen Schutzkolloiden bei der Entstehung von kolloidalen Stoffen nicht immer den wesentlichsten Faktor ausmacht, darauf hat bereits als erster Neuberg[2]) bei der Darstellung seiner kolloidalen anorganischen Erdalkalisalze hingewiesen, wobei diese Verbindungen auch ohne jede Gegenwart von eigentlichen Schutzkolloiden entstehen.

II.

Ich habe bereits in der obigen Mitteilung über die Bildungsweise der kolloidalen Metallchloride berichtet, und möchte nun den Weg angeben, wie man zu den kolloidalen Metallsulfaten gelangen kann.

Wie eingangs bereits erörtert wurde, entstehen die Chloride, indem man im allgemeinen auf ein Metallsalz von organischen Carbonsäuren Thionylchlorid einwirken läßt, und zwar nach der allgemeinen Formel:

$$RCOOMe + SO\begin{matrix}\diagup Cl\\ \diagdown Cl\end{matrix} = ROCl + MeCl + SO_2 .$$

Wird nun anstatt des Thionylchlorids als Chlorierungsmittel Sulfurylchlorid angewandt, so entstehen die entsprechenden Metallsulfate nach der allgemeinen Formel:

$$2\,RCOOMe + SO_2\begin{matrix}\diagup Cl\\ \diagdown Cl\end{matrix} = 2\,ROCl + Me_2SO_4 .$$

---

[1]) A. Michael, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 3217, 1905. — C. Paal, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1436, 1906. — C. Paal und Kühn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 51 bis 68, 1908.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 1, 166, 1906; 9, 537, 1908. — Derselbe, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide. 2. Jahrg., Heft 11 bis 12, 1907.

Als Mittel zur Gewinnung von kolloidalem Chlorid wurde Sulfurylchlorid von Paal und Kühn[1]) sowie von Ephraim[2]) angewendet. Die Ephraimsche Umsetzung besteht darin, daß man Sulfurylchlorid auf Urethannatrium einwirken läßt. Bei der Paal-Kühnschen Umsetzung wirkt Sulfurylchlorid auf Natriumäthylmalonsäureester. Bei diesen Umsetzungen wirkt also das Sulfurylchlorid nicht auf ein echtes Salz einer Carbonsäure, und demgemäß ist auch der Reaktionsverlauf ein anderer wie in den von mir angegebenen Fällen. Bei meiner Methode führt das Sulfurylchlorid direkt zur Bildung von kolloidalen Sulfaten.

Über den Ausbau und die Einzelheiten meiner Experimente bzw. Untersuchungen soll demnächst berichtet werden. Die planmäßige Ausarbeitung des Themas ist bereits im Gange, indem ich durch die bereits geschilderten Methoden zur Herstellung kolloidaler Metallsalze, die sowohl durch Einfachheit der Ausführung der Umsetzungen, als auch durch die allgemeinere Anwendbarkeit gekennzeichnet erscheinen, das Studium dieser biologisch interessanten Körperklassen weiterzuführen gedenke.

---

[1]) C. Paal und Kühn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1436, 1906; 41, 51, 1908.

[2]) F. Ephraim, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 1705, 1906.

Studien über Zelleiweiß mit Hilfe der Formoladdition.

Von

Hugo Wiener.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 28. August 1913.)

Zu einer Zeit, da man einen prinzipiellen Unterschied zwischen dem Eiweißstoffwechsel bei Stickstoffgleichgewicht und dem bei Stickstoffdefizit annahm und glaubte, daß im ersteren Falle nur „zirkulierendes“ oder „Nahrungs-Eiweiß“, im letzteren Falle auch „Organeiweiß“ zersetzt wird und die Zersetzung dieser beiden Eiweißarten verschieden verläuft, stand die Frage nach der Trennung derselben im Vordergrunde des Interesses und man suchte nach Eigenschaften und Reaktionen, welche diese beiden Eiweißarten voneinander chemisch unterscheiden sollten.

Die Möglichkeit der Erzielung eines Stickstoffgleichgewichts bei verschieden großer Eiweißzufuhr innerhalb weiter Grenzen schien dafür zu sprechen, daß, nachdem stets nur so viel Eiweiß zersetzt, als zugeführt wird, nur das zugeführte, also das Nahrungseiweiß zersetzt wird, das vom Darme aus resorbiert in die Zirkulation und durch diese an und in die Zellen gelangt, wo es gleichsam die Maschen des Protoplasmas durchströmt und durch seine Zersetzung das Organeiweiß vor der Zersetzung schützt. Das Organeiweiß sollte demnach nach dieser Vorstellung etwas Feststehendes, von der Geburt, oder wenigstens vom vollendeten Wachstum bis zum Tode des Individuums Unveränderliches darstellen, das prinzipiell vom Nahrungseiweiß verschieden ist, und ein Übergang des einen in das andere sollte nicht stattfinden.

Die starren Anhänger dieser Anschauung mußten aber doch für pathologische Verhältnisse einen solchen Übergang, den sie für physiologische Verhältnisse leugneten, zugeben, denn anders war eine Stickstoffretention nach einer überstandenen Periode von Stickstoffdefizit, sobald die Ursache für letzteres geschwunden war, nicht zu erklären. Das während der Periode des Stickstoffdefizits zugrunde gegangene Organeiweiß mußte in der folgenden Periode der Stickstoffretention wieder neu aufgebaut werden, was natürlich nur aus dem zugeführten Nahrungseiweiß geschehen konnte.

Es ist nun leicht erklärlich, daß eine Reihe von Forschern diesen, von den anderen nur für pathologische Verhältnisse zugestandenen, Übergang von Nahrungs- in Organeiweiß als physiologisch bestimmt, zum normalen Ersatz der Gewebe, annahmen und die Anschauung vertraten, daß stets das Nahrungseiweiß in Organeiweiß umgewandelt und letzteres erst zersetzt werde, und zwar nur in dem Maße, als es durch einen Nachschub von Nahrungeiweiß ersetzt wird.

Dadurch schwand der starre Gegensatz zwischen dem Nahrungs- und dem Organeiweiß, und die Frage nach der Scheidung dieser beiden büßte an Interesse ein. Ganz verschoben wurde aber diese Frage, als die neueren Untersuchungen auf dem Gebiete der Verdauungs- und Stoffwechselphysiologie lehrten, daß die in den Darm eingeführten Eiweißkörper, also das Nahrungseiweiß, daselbst weitgehend abgebaut, nur seine mehr oder minder tiefen Abbauprodukte resorbiert werden und in die Zirkulation gelangen, so daß man überhaupt nicht mehr von zirkulierendem Eiweiß im früheren Sinne sprechen kann. Dadurch verschwand selbstverständlich die Unterscheidung zwischen zirkulierendem und Organeiweiß ganz aus der Diskussion, freilich mit Unrecht, da, wie schon erwähnt, die ganze Frage nur eine Verschiebung erfahren hatte, nicht aber aus der Welt geschafft war.

Wir müssen uns ja vorstellen, daß, in welcher Form auch das Nahrungseiweiß im Körper kreisen mag, aus demselben in den Zellen wieder echtes Eiweiß entsteht und daß dieses neugebildete Eiweiß noch eine Reihe weiterer Umwandlungen erfahren muß, bevor es in den Bestand der Zelle eintritt, zu spezifischem Organeiweiß wird. Dementsprechend würde der

Zellinhalt außer aus dem spezifischen Organeiweiß noch aus nicht spezifischem Nahrungseiweiß bestehen und die Frage nach der Unterscheidung beider wieder eine Berechtigung erlangen.

Als Reagens, diese Scheidung durchzuführen, schien der Formaldehyd besonders geeignet.

Bekanntlich hat Blum[1]) als erster die Beobachtung gemacht, daß Formaldehydzusatz zu einer Reihe löslicher Eiweißkörper nicht nur keine Koagulation derselben erzeugt, sondern daß diese Formaldehydeiweißverbindungen sogar in der Hitze nicht mehr koagulabel sind. Diese Angaben wurden durch Bach[2]) bestätigt und durch Benedicenti[3]) und namentlich durch Schwarz[4]) wesentlich ergänzt.

Letzterer Autor, der mit Serumalbumin, Serumglobulin, Eieralbumin, Edestin und Blutserum arbeitete, beobachtete bei Zusatz großer Mengen von Formaldehyd Trübung und später, wie schon Blum, Gallertbildung.

Ich habe die Versuche mit Pferdeserum wiederholt und konnte folgendes konstatieren: Bei Zusatz von geringen Mengen Formaldehyd (zu 9,8 ccm Serum, 0,2 ccm Formol i. e. $40^0/_0$ige Formaldehydlösung) sieht man weder eine Trübung, noch sonst eine physikalische Zustandsänderung durch viele Stunden, nur tritt Unkoagulierbarkeit in der Hitze ein. Nach 24 Stunden ist das Serum noch immer vollständig klar geblieben, aber es ist in eine weiche Gallerte verwandelt, die sich sowohl im Wasser als auch in physiologischer Kochsalzlösung prompt mit leichter Opalescenz löst und dann unverändert in diesem Zustande, ohne die geringste Niederschlagsbildung, durch viele Tage bleibt.

Zusatz von Formol bis zur gleichen Konzentration zu 10fach verdünntem Serum (10 ccm Serum, 88 ccm Wasser, 2 ccm Formol) erzeugt bis auf die Unkoagulierbarkeit in der Hitze keine sichtbare Veränderung. Das Serum bleibt durch viele Tage flüssig, ungetrübt, ohne Niederschlagsbildung.

---

[1]) Über eine neue Klasse von Verbindungen der Eiweißkörper. Zeitschr. f. physiol. Chem. **22**, 127, 1896.

[2]) Archives des sciences physiques et naturelles **3**, 88, 1897.

[3]) Arch. f. Physiol. **1897**, 219.

[4]) Über Verbindungen der Eiweißkörper mit Aldehyden. Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**, 460, 1901.

Zusatz von Formol in einer zehnmal so großen Konzentration zu unverdünntem Serum (8 ccm Serum, 2 ccm Formol) ruft ebenfalls keine Trübung oder Niederschlagsbildung hervor. In kurzer Zeit erstarrt aber das Serum zu einer starren Gallerte, die man schneiden kann und die sich weder in Wasser noch in physiologischer Kochsalzlösung löst.

Die meisten löslichen Eiweißkörper werden also durch Formol nicht gefällt, sie werden höchstens gelatiniert und als Gallerte eventuell unlöslich, von einer echten Fällung kann aber nicht die Rede sein. Nur einige wenige lösliche Eiweißkörper werden durch Formolzusatz gefällt. Hierher gehört in erster Linie das Hämoglobin und dann das Casein, allein bei beiden ist es fraglich, ob sie mit den anderen löslichen Eiweißkörpern in eine Reihe gestellt werden können, ob man sie nicht vielmehr als spezifische Zellbestandteile, in gewissem Sinne also als Organeiweißkörper, ansprechen muß, denn das Hämoglobin ist fest an die dasselbe führenden Zellen gebunden, tritt nur nach Zugrundegehen letzterer in Freiheit und geht in Lösung, gelöst aber wird es in normalen Organen bald zersetzt. Auch das Casein dürfte nicht als eigentliches Sekret, sondern als ausgestoßener Teil der Drüsenzellen anzusehen sein.

Die allgemeine Regel von der Nichtfällbarkeit des zirkulierenden Eiweißes durch Formol würde darnach keine Einschränkung erfahren, und die beiden letztgenannten Eiweißkörper, wie in der Auffassung ihrer Stellung, auch in ihrem Verhalten gegen Formol einen Gegensatz zu den ersteren bilden, dafür aber in voller Übereinstimmung zu den übrigen Organeiweißkörpern stehen.

Es hat nämlich Blum[1]) schon die Beobachtung gemacht, daß die Eiweißkörper, die die Gewebe zusammensetzen, durch Formaldehyd gehärtet werden, und diese Fällbarkeit des Organeiweißes durch Formol ist von den Histologen zu einer sehr brauchbaren Härtungsmethode ausgenutzt worden. Daß dabei die Organe nicht nur gehärtet, sondern ihr Eiweiß tatsächlich durch das Formol, und zwar in einer Konzentration, bei der die löslichen Eiweißkörper löslich bleiben, gefällt wird, beweist

[1]) Über Wesen und Wert der Formolhärtung. Anat. Anzeiger 11, Nr. 23, 24, 1896.

das mikroskopische Bild, das mit dem mit anderen Eiweißfällungsmitteln konservierter Organe vollständig identisch ist.

Dieses verschiedene Verhalten der beiden Arten von Eiweiß Formol gegenüber hat bereits v. Zeynek[1]) benutzt, um bei Quallen eine Isolierung des Organ- oder Gerüsteiweißes zu erzielen. Er machte die interessante Beobachtung, daß aus in 2 $^0/_0$ Formol gehärteten Quallen nachträglich durch Wasser noch Eiweiß auswaschbar ist, ohne daß weder im makroskopischen noch im mikroskopischen Aussehen derselben irgendeine Veränderung zu konstatieren ist, und kam daher zu der Anschauung, daß die Quallen in ihren Zellen außer dem eigentlichen, durch Formol fällbaren, Gerüsteiweiß noch durch Formol nicht fällbares, also zur Organisation der Zellen nicht direkt gehöriges, Eiweiß enthalten.

Es war daher vielversprechend, dieser Anregung folgend, die Verhältnisse bei höheren Tieren, resp. deren Organen zu verfolgen.

Die ersten Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt: Ein Kaninchen wurde aus der Carotis verblutet, die Brust- und Bauchhöhle eröffnet, eine Kanüle, die mit einem Schlauche mit einer, physiologische Kochsalzlösung enthaltenden, mit seitlicher Ausflußöffnung versehenen, etwas erhöht stehenden Flasche verbunden war, in die Vena cava ascendens oberhalb des Zwerchfells peripheriewärts eingebunden und dieselbe Vene unterhalb der Einmündung der Lebervenen abgeklemmt. Nach Öffnung eines am Schlauche befindlichen Hahnes mußte die Kochsalzlösung durch die Lebervenen in die Leber strömen, wodurch die Leber sich gleichsam erigirte. Nach Lüftung der unteren, an der Vena cava ascendens liegenden, Klemme strömte die Flüssigkeit dann wieder ab. Auf diese Weise wurde binnen kurzem die Leber vollständig blutfrei gespült, dann herausgenommen und genau nach der von Wiechowski[2]) ausgearbeiteten Methode zu einem Pulver verarbeitet.

Ein anderes Kaninchen wurde in der gleichen Weise be-

---

[1]) Chemische Studien über Rhizostoma Cuvieri. Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. in Wien, math.-naturw. Klasse, 121, Abt. IIb, 1552, 1912.

[2]) Eine Methode z. chem. u. biolog. Untersuchung überlebender Organe. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 232, 1907.

handelt, nur mit dem Unterschiede, daß die Blutfreiwaschung der Leber nicht mit physiologischer Kochsalzlösung, sondern mit einer solchen, der 2 % Formol zugesetzt war, vorgenommen wurde.

Die beiden Leberpulver wurden dann in ganz gleicher Weise weiter untersucht.

Zunächst wurde, um den Trockenrückstand des kochsalzhaltigen Leberpulvers zu bestimmen, eine gewogene Menge bei 100° C getrocknet, wobei natürlich ein Unlöslichwerden aller Eiweißkörper eintrat; dann wurde das Pulver mittels Wasser quantitativ auf ein gewogenes Filter gebracht, chlorfrei gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

In einer anderen Probe des Pulvers wurde die Menge der löslichen und unlöslichen Eiweißkörper, resp. der lösliche und unlösliche Stickstoff bestimmt. Dies geschah in folgender Weise.

Eine gewogene Menge Pulvers wurde in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, 24 Stunden stehen gelassen und dann abfiltriert. Hierauf wurde das Filter durchgestoßen und das Pulver mit physiologischer Kochsalzlösung quantitativ wieder in das gleiche Becherglas zurückgespült und dies Prozedur gewöhnlich 3 mal wiederholt, so daß das Pulver 3 mal 24 Stunden der Extraktion durch physiologische Kochsalzlösung ausgesetzt war. Um während dieser Zeit eine Fäulnis zu vermeiden, wurde Toluol zugesetzt, und um eine etwaige Autolyse und dadurch ein Löslichwerden von Eiweiß auszuschalten, wurden die Proben während dieser Zeit bei niederer Temperatur gehalten.

Nachdem die wiederholte Extraktion mit physiologischer Kochsalzlösung beendet war, wurde der übriggebliebene Rest des Pulvers quantitativ auf ein gewogenes Filter gebracht, chlorfrei gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Mit demselben wurde dann, sowie andererseits mit den gesammelten und eingeengten Kochsalzfiltraten, eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen.

Versuch 1.

Kaninchen A, 1930 g schwer. Leber mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei gespült.

0,4674 g Leberpulver ergeben, nach oben beschriebener Methode verarbeitet, 0,3750 g Trockensubstanz = 80,21 %.

a) 0,3578 g Leberpulver, also entsprechend 0,2871 g Trockensubstanz, geben nach oben beschriebener Methode: 0,02506 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1064 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalt von 0,01162 g N.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher . . . . . 8,73 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
4,05 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N,
12,78 $^0/_0$ Gesamt-N.

b) 0,4492 g Leberpulver, also entsprechend 0,3604 g Trockensubstanz, geben nach oben beschriebener Methode: 0,03108 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1354 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalt von 0,01524 g N.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher . . . . . 8,62 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
4,22 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N,
12,94 $^0/_0$ Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:
8,71 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
4,13 $^0/_0$ „ „ „ unlöslichen N,
12,84 $^0/_0$ Gesamt-N.

Kaninchen B, 1800 g schwer. Leber mit physiologischer Kochsalzlösung + 2 $^0/_0$ Formol blutfrei gespült.

0,5208 g Leberpulver ergeben 0,4270 g Trockensubstanz = 81,99 $^0/_0$.

a) 0,3698 g Leberpulver, entsprechend 0,3032 g Trockensubstanz, geben 0,2918 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit 0,03097 g N.

Bestimmung des löslichen N verloren gegangen.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher 10,01 $^0/_0$ in physiologischer Kolchsalzlösung unlöslichen N.

b) 0,4876 g Leberpulver, entsprechend 0,3998 g Trockensubstanz, geben 0,00182 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,3848 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit 0,0385 g N.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher . . . . . 0,45 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
9,63 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N,
11,08 $^0/_0$ Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:
0,45 $^0/_0$ in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
9,82 $^0/_0$ „ „ „ unlöslichen N,
10,27 $^0/_0$ Gesamt-N.

Dieser Versuch ergibt eine Reihe von Tatsachen, die aber erst zugleich mit den Resultaten anderer Versuche besprochen werden sollen. Nur ein Moment möchte ich jetzt schon herausgreifen, mit dessen Erklärung ich mich zunächst beschäftigt habe. Es ist dies das Verhalten des Gesamtstickstoffgehalts in der kochsalzdurchspülten und in der formolkochsalzdurchspülten Leber. Letztere enthält beträchtlich weniger Stickstoff. Die Erklärung hierfür kann in verschiedenen Momenten liegen. Zunächst könnte dieser Mindergehalt an Stickstoff durch individuelle Verschiedenheiten verschiedener Lebern bedingt sein, denn es ist von vornherein unwahrscheinlich, daß alle Lebern genau den gleichen Stickstoffgehalt besitzen, und daß gerade die formolkochsalzdurchspülte Leber den geringeren Stickstoffgehalt besitzt, könnte ein bloßer Zufall sein. Diese Möglichkeit besteht jedenfalls, wenn auch die untersuchten Lebern von Tieren desselben Wurfes und fast desselben Gewichts stammten.

Um nun dieses, die Beurteilung der Stickstoffwerte störende, Moment auszuschalten, habe ich in den folgenden Versuchen die Leber nur eines Tieres verwendet und einige Lappen derselben mit Kochsalzlösung, einige Lappen mit Formolkochsalzlösung blutfrei gespült. Dies gelingt sehr leicht, da die einzelnen Leberlappen beim Kaninchen nur ligamentöse Verbindungen miteinander haben, die mit einem Pean leicht abgeklemmt werden können. Dabei ging ich in verschiedener Weise vor. Nachdem die Präparation in der im ersten Versuche geschilderten Weise vorgenommen war, setzte ich in einem Versuche einen größeren Leberlappen durch Abklemmung seiner ligamentösen Verbindung außer Zirkulation und durchspülte die übrige Leber, wie im ersten Versuche, mit Formolkochsalzlösung. Dann wurde reine physiologische Kochsalzlösung nachgeschickt bei gleichzeitiger Entfernung der Klemme, so daß nun die ganze Leber mit Kochsalzlösung ausgespült wurde. In einem anderen Versuche klemmte ich die Verbindung einiger Leberlappen ab, durchspülte so die anderen mit Kochsalzlösung, löste dann die Abklemmung unter gleichzeitiger Abklemmung der ligamentösen Verbindung der kochsalzdurchspülten Leberlappen und durchströmte so die früher nicht durchspülten mit Formolkochsalzlösung. In einem dritten Versuche durchspülte ich die ganze Leber zunächst mit physiologischer Kochsalzlösung, klemmte dann die

Verbindung einiger Lappen ab und durchspülte weiter die in Verbindung gebliebenen Leberlappen mit Formolkochsalzlösung. Bei der ersten Versuchsanordnung bekam ich zwei Leberportionen, von denen die eine mit Kochsalzlösung, die andere mit Formolkochsalzlösung und dann mit Kochsalzlösung ausgespült war, bei der zweiten Versuchsanordnung war eine Leberportion nur mit Kochsalzlösung, die andere nur mit Formolkochsalzlösung ausgespült, bei der dritten Versuchsanordnung war eine Portion mit Kochsalzlösung, die andere erst mit Kochsalzlösung und dann mit Formolkochsalzlösung ausgespült.

Alle diese Versuche fielen gleichsinnig aus, und es zeigte sich vollkommen gleichgültig, ob die formolkochsalzdurchspülte Portion nur mit Formolkochsalzlösung oder vorher oder nachher noch mit Kochsalzlösung ausgespült wurde.

Die Versuche, in denen die Weiterverarbeitung der Leberportionen in der gleichen Weise erfolgte, wie in Versuch 1, ergaben:

Versuch 2.

Kaninchen, 2260 g schwer. A kochsalzdurchspülte, B formolkochsalzdurchspülte Leberportion.

A. 0,3750 g Leberpulver geben einen Trockenrückstand von 0,3022 g = 80,59 %.

a) 0,3126 g Leberpulver, entsprechend 0,2520 g Trockensubstanz, enthalten 0,0166 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1368 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalt von 0,01904 g N.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher . . . . . 6,59 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
7,56 % in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N,
14,15 % Gesamt-N.

b) 0,2486 g Leberpulver, entsprechend 0,2003 g Trockensubstanz, enthalten 0,01274 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1066 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalt von 0,01624 g N.

Das Pulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher . . . . . 6,36 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
7,97 % in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N,
14,33 % Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

6,47 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
7,76 % „ „ „ unlöslichen N,
14,23 % Gesamt-N.

B. 0,3336 g Leberpulver geben 0,2686 g Trockenrückstand = 80,52 %.

a) 0,2982 g Leberpulver, entsprechend 0,2401 g Trockensubstanz, enthalten 0,00826 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1714 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,02562 g N.

Das Pulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet:

3,44 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
10,67 % „ „ „ unlöslichen N,
14,11 % Gesamt-N.

b) 0,3642 g Leberpulver, entsprechend 0,2932 g Trockensubstanz, enthalten 0,00896 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,2084 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,02982 g N.

Das Leberpulver, auf Trockenrückstand berechnet, enthält daher:

3,06 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
10,17 % „ „ „ unlöslichen N,
13,23 % Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

3,25 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
10,42 % „ „ „ unlöslichen N,
13,67 % Gesamt-N.

Versuch 3.

Kaninchen, 2520 g schwer.

A. 0,3722 g Leberpulver geben 0,2918 g Trockenrückstand = 78,40 %.

a) 0,3356 g Leberpulver, entsprechend 0,2631 g Trockensubstanz, enthalten 0,0165 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1252 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,0164 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet:

6,27 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
6,23 % „ „ „ unlöslichen N,
12,50 % Gesamt-N.

b) 0,3474 g Leberpulver, entsprechend 0,2723 g Trockensubstanz, enthalten 0,1304 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalt von 0,0179 g N.

Die Bestimmung des in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N verloren gegangen.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet, 6,57 % in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

6,27 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
6,40 % " " " unlöslichen N,
12,67 % Gesamt-N.

B. 0,4966 g Leberpulver geben 0,4030 g Trockenrückstand = 81,15 %.

a) 0,2520 g Leberpulver, entsprechend 0,2045 g Trockensubstanz, enthalten 0,0034 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,2000 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,02016 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet:

1,66 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
9,86 % " " " unlöslichen N,
11,52 % Gesamt-N.

b) 0,4362 g Leberpulver, entsprechend 0,3540 g Trockensubstanz, enthalten 0,0034 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,3424 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,03486 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet:

0,96 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
9,85 % " " " unlöslichen N,
10,81 % Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

1,31 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
9,85 % " " " unlöslichen N,
11,16 % Gesamt-N.

Versuch 4.

Kaninchen, 2950 g schwer.

A. 0,4856 g Leberpulver geben 0,3682 g Trockenrückstand = 75,82 %.

a) 0,3424 g Leberpulver, entsprechend 0,2596 g Trockensubstanz, enthalten 0,0140 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,0826 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,0147 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

5,39 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
5,66 % " " " unlöslichen N,
11,05 % Gesamt-N.

b) 0,2172 g Leberpulver, entsprechend 0,1579 g Trockensubstanz, enthalten 0,00864 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,0500 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,00884 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

5,47 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
5,60 % " " " unlöslichen N,
11,07 % Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

5,43 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
5,63 % " " " unlöslichen N,
11,06 % Gesamt-N.

B. 0,4278 g Leberpulver geben 0,3526 g Trockenrückstand = 82,42 %.

a) 0,3164 g Leberpulver, entsprechend 0,2608 g Trockensubstanz, enthalten 0,00336 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,2476 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,02268 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

1,29 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
8,70 % " " " unlöslichen N,
9,99 % Gesamt-N.

b) 0,2280 g Leberpulver, entsprechend 0,1877 g Trockensubstanz, enthalten 0,00266 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N und 0,1770 g in physiologischer Kochsalzlösung unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,0168 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

1,42 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
8,95 % " " " unlöslichen N,
10,37 % Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

1,35 % in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N,
8,82 % " " " unlöslichen N,
10,17 % Gesamt-N.

Zur besseren Übersicht seien die Resultate dieser Versuche tabellarisch zusammengestellt.

	In Kochsalzlösung löslichen N %	In Kochsalzlösung unlöslichen N %	Gesamt-N %
Kochsalzleber II . . .	6,47	7,76	14,23
Formolkochsalzleber II .	3,25	10,42	13,67
Kochsalzleber III . . .	6,27	6,40	12,67
Formolkochsalzleber III	1,31	9,85	11,16
Kochsalzleber IV . . .	5,43	5,63	11,06
Formolkochsalzleber IV	1,35	8,82	10,17

Wenn wir wieder zunächst den Gesamtstickstoffgehalt der einzelnen Lebern betrachten, so finden wir tatsächlich individuelle Verschiedenheiten, die in den untersuchten Fällen bis 3 % betragen, und somit könnte der geringere Stickstoffgehalt der formoldurchspülten Leber in Versuch I ganz in den Rahmen

solcher individueller Schwankungen fallen und durch diese, somit durch einen Zufall in der Auswahl der Lebern, erklärbar sein.

Aber auch nach Ausschaltung dieses, durch individuelle Verschiedenheiten bedingten, Momentes, wie es eben in den letzten drei Versuchen durch Benutzung der Leber nur eines Tieres geschah, sehen wir ganz konstant, daß der prozentische Gesamtstickstoffgehalt der formolkochsalzdurchspülten Leberpartie ein deutlich geringerer ist als der der kochsalzdurchspülten. Die Differenzen betragen in den drei Versuchen 0,56 %, resp. 1,51 %, resp. 0,89 %.

Schuld an diesem Verhalten kann nur die Formoldurchspülung sein, und man könnte zunächst geneigt sein, in dieser Differenz den Ausdruck einer Ausschwemmung einer stickstoffhaltigen Substanz aus der Leber durch das Formol zu erblicken. Allein bei näherer Überlegung ergibt sich, daß ein solches Moment diese Differenz nicht erklären könnte, vielmehr, wenn es vorhanden wäre, in den Zahlen nicht zum Ausdruck kommen könnte, es wäre denn, daß der ausgeschwemmte Körper prozentisch viel mehr Stickstoff enthalten würde als die übrigen, die Leber zusammensetzenden, Eiweißkörper. Da wir aber nach den früheren Erfahrungen nur annehmen können, daß, wenn überhaupt eine Ausschwemmung eines Körpers aus der Leber durch das Formol stattfindet, dieser ein Eiweißkörper ist und die meisten Eiweißkörper einen annähernd gleichen prozentischen Stickstoffgehalt besitzen, so könnte durch eine solche Ausschwemmung keine prozentische Stickstoffverarmung der restierenden Leber eintreten. Eine solche muß aber sofort eintreten, wenn das Molekül des Lebereiweißes durch Aufnahme von Kohlen- oder Wasserstoffatomen vergrößert wird.

Nun hat bereits Blum[1]) die Anschauung vertreten, daß bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweiß Methylengruppen in das Eiweißmolekül eintreten und so Methyleneiweißverbindungen entstehen, und Schwarz[2]) hat dies quantitativ durch Bestimmung des Verhältnisses N:C vor und nach der Einwirkung des Formaldehyds auf verschiedene Eiweißkörper verfolgt.

---

[1]) l. c.
[2]) l. c.

Unter Zugrundelegung der Schmiedebergschen Formel für das Serumalbumin und unter Zugrundelegung der Änderung des Verhältnisses N:C von 100:334 auf 100:362 bei kurzer Einwirkung von Formaldehyd auf Serumalbumin, wie sie von Schwarz festgestellt wurde, würde das Methylenserumalbumin einen Stickstoffgehalt von 15,29 % im Gegensatze zu 15,98 % des Serumalbumins haben. Es wäre daher die Differenz zwischen dem Stickstoffgehalte des mit Formol behandelten und dem des reinen Serumalbumins ca. 0,7 % zuungunsten des ersteren, ein Wert, der sich so ziemlich in denselben Grenzen bewegt, wie die Differenz im Stickstoffgehalt der formolkochsalzdurchspülten und der kochsalzdurchspülten Leber.

Die in allen Versuchen konstant nachgewiesene Verringerung des prozentischen Stickstoffgehaltes der formoldurchspülten Leberportion ist demnach hinreichend durch das Eintreten von Methylengruppen in das Lebereiweißmolekül erklärt.

Die zweite Tatsache, die in allen Versuchen zu konstatieren war, ist die bedeutende Abnahme des kochsalzlöslichen und eine derselben entsprechende Zunahme der kochsalzunlöslichen Stickstofffraktion. Daraus geht schon hervor, daß ein Teil des kochsalzlöslichen Stickstoffs durch Formol gefällt wird.

Von der Voraussetzung ausgehend, daß dieses Verhalten eines Eiweißkörpers gegen Formol seine Einreihung unter die Organeiweißkörper ermöglicht, müßte diese Eiweißfraktion als zum Bestande der Zellen gehörig angesehen werden, während das löslich gebliebene Eiweiß in gewissem Sinne als Nahrungseiweiß, das nicht zur Organisation der Zellen gehört, angesprochen werden müßte.

Bevor ich aber auf das nähere Studium dieser Verhältnisse einging, wollte ich mich überzeugen, ob bei den Säugetierorganen eine Analogie mit den von v. Zeynek an den Quallen gefundenen Verhältnissen, deren Diskussion die ganze Untersuchung mit veranlaßte, besteht, ob also in dem formolgehärteten Organe lösliches, auswaschbares Eiweiß zurückgeblieben ist.

Die prozentische Stickstoffverminderung in der formoldurchspülten Leber besagte, wie schon erwähnt, in dieser Richtung nichts, da sie nicht im Zusammenhange mit einer etwaigen Ausspülung von Eiweiß stehen konnte, sondern auf andere

Weise zu erklären war. Hingegen mußte folgende Versuchsanordnung eine Entscheidung bringen.

Einem Kaninchen wurde in der oben beschriebenen Weise die Leber mit physiologischer Kochsalzlösung blutfrei gespült, nur wurde dabei eine mit einem kurzen Schlauche armierte Kanüle in die Vena cava ascendens zentralwärts, und zwar unterhalb der unteren Abklemmungsstelle, eingebunden, so daß bei der Ausspülung die Spülflüssigkeit durch die Kanüle und den Schlauch abfloß und in einem Gefäße aufgefangen werden konnte. Die Spülung wurde so lange fortgesetzt, bis die abfließende Flüssigkeit vollständig wasserklar war, und von dieser die letzten 150 ccm aufgefangen, eingeengt und in ihnen eine Stickstoffbestimmung gemacht. Hierauf wurde eine Ausspülung mit Formolkochsalzlösung angeschlossen, die ersten abfließenden 150 ccm wieder aufgefangen und abermals zu einer Stickstoffbestimmung verwendet.

Die Resultate waren folgende:

Versuch 5.

Kaninchen, 2000 g schwer.

Die letzten 150 ccm der durch die Leber durchgeschickten Kochsalzlösung enthielten 0,00364 g N.

Die ersten 150 ccm der durch die Leber nachträglich durchgeschickten Formolkochsalzlösung enthielten 0,00784 g N.

Versuch 6.

Kaninchen, 2700 g schwer.

Die letzten 150 ccm der durch die Leber durchgeschickten Kochsalzlösung enthielten 0,00266 g N.

Die ersten 150 ccm der durch die Leber nachträglich durchgeschickten Formolkochsalzlösung enthielten 0,00420 g N.

In beiden Versuchen war also der Stickstoffgehalt der Formolkochsalzlösung größer, beiläufig sogar doppelt so groß, wie der der Kochsalzlösung am Schlusse der Ausspülung. Daraus geht mit Sicherheit hervor, daß tatsächlich beim Härten in schwachen Formollösungen ein Teil des in den Organen enthaltenen Eiweißes löslich bleibt und ausgewaschen werden kann. Auffallend bleibt es nur, daß dieser Eiweißkörper durch bloße Kochsalzausspülung nicht entfernt werden kann, während er leicht in die Formolkochsalzlösung hineingeht. Diese Tatsache könnte auf zweierlei Weise zustandekommen.

Entweder könnte durch die Formolbehandlung ein früher schwerer löslicher oder unlöslicher Eiweißkörper leicht löslich und so leicht ausspülbar werden, ein Verhalten, das wenig Wahrscheinlichkeit besitzt, da etwas Analoges kaum beobachtet ist. Oder aber es werden durch das Formol die Zellwände abgetötet, die (Semi-) Permeabilität derselben erhöht, und nun kann löslich gebliebenes Eiweiß, das früher in die Spülflüssigkeit nicht oder nur schwer hineinging, ausgespült werden. Für die Richtigkeit dieser Erklärung spricht auch die sonst unerklärliche Tatsache, daß aus den, zu einem Pulver zertrümmerten, Zellen einer mit Kochsalzlösung vollständig ausgespülten Leber in eine Kochsalzlösung große Mengen von Eiweiß hineingehen, was ebenfalls für die Semipermeabilität der lebenden Zellwände und eine totale Veränderung dieser Verhältnisse natürlich nach Zertrümmerung der Zellwände spricht.

Trotzdem also die zweite Erklärungsmöglichkeit vollständig gesichert erscheint, habe ich mich doch verpflichtet gefühlt, die erste, wenn auch wenig wahrscheinliche, auf ihre Stichhaltigkeit zu prüfen, weil ja die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen war, daß beide Momente gleichzeitig wirksam sind.

Um zu sehen, ob die Formolkochsalzlösung einen Eiweißkörper aus den Leberzellen erst löslich macht, muß zunächst die Gesamtmenge der von vornherein löslichen Eiweißkörper entfernt werden. Die Verarbeitung des Pulvers war daher zunächst dieselbe, wie die in den ersten 4 Versuchen beschriebene. Nachdem man dann das Pulver durch mehrmalige Extraktion mit physiologischer Kochsalzlösung von dem löslichen Eiweiß gänzlich oder fast gänzlich befreit hatte, wurde das Pulver auf die gleiche Weise mehrmals mit Formolkochsalzlösung extrahiert, dann erst der übriggebliebene Rückstand bestimmt und in ihm, sowie in dem Kochsalz- und Formolkochsalzextrakt eine Stickstoffbestimmung gemacht.

Versuch 7.

Zu diesem Versuch wurde das Pulver der Leberportion A, also der kochsalzdurchspülten Leberportion des Versuches 4 verwendet.

Der Trockenrückstand beträgt 75,82 %.

a) 0,4076 g Leberpulver, entsprechend 0,3091 g Trockensubstanz, enthalten 0,01678 g in physiologischer Kochsalzlösung löslichen N, ferner

0,00154 g erst durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren N und 0,0854 g unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,01607 g N.

Das Leberpulver enthält daher auf Trockensubstanz berechnet:

5,43% durch Kochsalzlösung extrahierbaren N,
0,50% nachträglich noch durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren N,
5,20% unlöslichen N,
11,13% Gesamt-N.

b) 0,2506 g Leberpulver, entsprechend 0,1900 g Trockensubstanz, enthalten 0,01032 g mit physiologischer Kochsalzlösung extrahierbaren N, ferner 0,00084 g mit Formolkochsalzlösung extrahierbaren N und 0,0525 g unlöslichen Rückstand mit einem Gehalte von 0,00958 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockenrückstand berechnet:

5,43% durch physiologische Kochsalzlösung extrahierbaren N,
0,44% nachträglich noch durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren N,
5,00% unlöslichen N,
10,87% Gesamt-N.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

5,43% durch physiologische Kochsalzlösung extrahierbaren N,
0,47% nachträglich durch Formolkochsalzlösung extrahierten N,
5,10% unlöslichen N,
11,00% Gesamt-N.

Tatsächlich zeigt der Versuch, daß in dem kochsalzextrahierten Leberpulver noch eine, wenn auch sehr geringe, Menge in Formolkochsalzlösung löslichen Eiweißes enthalten ist, und der unlöslich bleibende Rückstand geringer ist als nach bloßer Extraktion mit Kochsalzlösung, was ja für die Annahme, daß durch Formol ein früher unlöslicher Eiweißkörper löslich geworden ist, zu sprechen scheint. Allein bei näherer Verfolgung des Versuches muß man zu einer anderen Anschauung gelangen. Wenn man nämlich, wie es in diesem Versuche geschehen ist, nicht die gesamten Kochsalzfiltrate vereinigt und in ihnen eine Stickstoffbestimmung macht, sondern in jedem gesondert den Stickstoffwert bestimmt, erhält man folgendes Ergebnis:

Das Pulver wurde dreimal hintereinander durch je 24 Stunden mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert.

In der 1. Portion fand sich in a) 0,01124 g N, in b) 0,00828 g N
" " 2. " " " " a) 0,0040 g N, " b) 0,00120 g N
" " 3. " " " " a) 0,00154 g N, " b) 0,00084 g N

Man sieht also, daß in die 1. Portion der größte Teil der durch die Summe der drei Werte in dem Versuche dargestellten, in Kochsalzlösung löslichen, Stickstoffmenge hineingeht, in die 2. Portion beträchtlich weniger und in die 3. Portion ein minimaler Rest, der in dem obigen Versuche sogar vollkommen gleich ist der dann noch durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren Stickstoffmenge.

Dieses Verhalten legt den Gedanken nahe, daß die Extraktion mit Kochsalzlösung, trotz mehrmaliger Wiederholung, doch nicht vollständig war und daß in dem Leberpulver noch ein geringer Rest in Kochsalzlösung löslichen Eiweißes zurückgeblieben war, der dann erst durch die Formolkochsalzlösung extrahiert wurde.

Diese Annahme wird um so wahrscheinlicher, als sich bei mehrmaliger Extraktion mit Formolkochsalzlösung und getrennter Untersuchung der einzelnen Portionen auf ihren Stickstoffgehalt zeigte, daß nur die erste Portion stickstoffhaltig, die übrigen Portionen vollständig stickstofffrei waren.

Demnach liegt die einfachste Erklärung für den Umstand, daß nach erfolgter Extraktion eines Organpulvers mit Kochsalzlösung noch eine geringe Menge Eiweiß, die durch die Kochsalzlösung nicht mehr extrahierbar war, durch Formolkochsalzlösung extrahiert werden kann, nicht darin, daß ein in Kochsalzlösung unlöslicher Eiweißkörper durch Formolkochsalzlösung löslich wird, sondern darin, daß bei der Verarbeitung der Organe zu einem Pulver zwar die Zellwände zum größten Teile, aber nicht vollständig zertrümmert und dadurch permeabel werden, der Rest derselben aber erst durch das Formol abgetötet und permeabel wird. Dann kann auch der letzte Rest des in den Zellen enthaltenen löslichen Eiweißes heraustreten und von der Formolkochsalzlösung aufgenommen werden.

Daraus ergibt sich aber, daß, wie schon früher als wahrscheinlich hingestellt wurde, das Übertreten von Eiweiß in eine Formolkochsalzlösung bei Durchspülung einer kochsalzdurchspülten Leber mit derselben nur auf eine Abtötung der Zellwände und der dadurch geschaffenen Möglichkeit des Austrittes des in den Zellen enthaltenen löslichen Eiweißes zurückzuführen ist.

Es ergibt sich aber ferner, daß bei, wenn auch nur teilweise, erhaltener Struktur der Zellwände die Extraktion eines

Organpulvers mit Kochsalzlösung nie eine vollständige sein kann, sondern daß man, um sie vollständig zu machen, eine nachträgliche Extraktion mit Formolkochsalzlösung anschließen muß.

Somit wären in den ersten 4 Versuchen alle Werte für den in Kochsalzlöung löslichen Stickstoffanteil um ein Geringes zu niedrig, die für den unlöslichen Stickstoffanteil um ein Geringes zu hoch bei den kochsalzdurchspülten Lebern angegeben. Nach Einführung einer entsprechenden Korrektur würde dann der Kontrast zwischen den Werten der kochsalzdurchspülten und der formolkochsalzdurchspülten Lebern noch etwas größer sein.

Nach Klarlegung dieser Verhältnisse konnte ich mich dem näheren Studium der zweiten, aus den ersten Versuchen hervorgehenden Tatsache, nämlich der prozentischen Abnahme des löslichen und der prozentischen Zunahme des unlöslichen Stickstoffs in den formolkochsalzdurchspülten Lebern zuwenden. Die erstere beweist, da man keine Ursache hat, dem löslichen Eiweiß in den formoldurchspülten Lebern einen wesentlich anderen Stickstoffgehalt zuzusprechen, als dem löslichen Eiweiß in den kochsalzdurchspülten Lebern, abgesehen von der leichten Verminderung des Stickstoffgehaltes infolge Vergrößerung des Moleküls durch Eintritt von Methylengruppen, daß in den formoldurchspülten Lebern eine beträchtliche Verminderung des löslichen Eiweißes eingetreten ist. Diese Abnahme ist gewiß, aber nur zum Teile, auf die bereits eingehend besprochene Ausspülung von löslichem Eiweiß aus den formolkochsalzdurchspülten Lebern durch die Formolkochsalzlösung zurückzuführen, zum Teil aber, wie die gleichzeitige Zunahme des unlöslichen Anteils beweist, auf eine Fällung eines Teiles des in den kochsalzdurchspülten Lebern vorhandenen löslichen Eiweißes.

Um diese Verhältnisse näher zu untersuchen, wurden folgende Versuche angestellt.

Aus einer kochsalzdurchspülten Leber wurde ein Pulver bereitet, dasselbe zunächst mehrere Male mit Kochsalzlösung extrahiert, und die gesammelten Kochsalzextrakte mit Formol (bis eine $2\,^0/_0$ige Formollösung resultierte) versetzt, wobei ein allmählich entstehender Niederschlag sich bildete. Dieser Niederschlag wurde auf einem gewogenen Filter gesammelt, mit $2\,^0/_0$iger

Formollösung erst eiweißfrei und dann chlorfrei gewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und dann mit ihm eine Stickstoffbestimmung gemacht. Der löslich gebliebene Anteil des Kochsalzextraktes wurde samt den Waschwässern eingeengt und ebenfalls der Stickstoffbestimmung unterzogen.

Der Rest des Leberpulvers wurde dann, um die Extraktion vollständig zu machen, mit Formolkochsalzlösung noch einige Male extrahiert. Vorher hatte ich mich überzeugt, daß im letzten Kochsalzextrakt keine Fällung mehr durch Formol entsteht, daß also der formolfällbare Körper in den Kochsalzextrakt viel leichter und schneller hineingeht als der nicht fällbare, und daß daher nicht die Gefahr besteht, bei nachträglicher Formolkochsalzextraktion einen Rest des formolfällbaren Körpers, der vielleicht bei weiterer Extraktion mit Kochsalzlösung noch in Lösung gegangen wäre, zur Ausfällung zu bringen. Man kann demnach den in der Formolkochsalzlösung enthaltenen Stickstoffanteil ohne Bedenken dem nach vorgenommener Ausfällung des Kochsalzextraktes mit Formol löslich gebliebenen Anteile hinzurechnen.

Schließlich wurde der übriggebliebene Rest des Leberpulvers auf einem gewogenen Filter gesammelt, chlorfrei gewaschen, bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und mit ihm eine Stickstoffbestimmung vorgenommen.

Versuch 8.

Von einem Pulver einer kochsalzdurchspülten Leber wurden genommen:

a) 0,5010 g entsprechend 0,3799 g Trockensubstanz.

Dieselben wurden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Kochsalzextrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wog 0,0482 g und enthielt 0,0091 g N. Das Filtrat enthielt 0,0128 g.

Hierauf wurde das Pulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert, der Extrakt enthielt 0,00196 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wog 0,1350 g und enthielt 0,0203 g N.

Das Pulver enthielt daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N	
durch Formol fällbaren	2,40 %
„ „ nicht fällbaren	3,21 %
durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N	
durch Formol-NaCl-Lösung extrahierbaren	0,52 %
unlöslichen	5,34 %
Gesamt-N	11,47 %

b) Es wurden 0,4154 g Leberpulver entsprechend 0,3150 g Trockensubstanz genommen. Dieselben wurden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Kochsalzextrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wog 0,0430 g und enthielt 0,00882 g N. Das Filtrat enthielt 0,00924 g N.

Hierauf wurde das Pulver mit Formolkocksalzlösung extrahiert. Der Extrakt enthielt 0,00154 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wog 0,1128 g und enthielt 0,0184 g N.

Das Pulver enthielt daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N
 durch Formol fällbaren . . . . 2,80 %
 " " nicht fällbaren . . . . 2,98 %
durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N
 durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren . 0,47 %
 unlöslichen . . . . 5,84 %
 Gesamt-N 12,19 %.

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergab:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N
 durch Formol fällbaren . . . . 2,60 % } 5,69 %
 " " nicht fällbaren . . . . 3,09 % }
durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N
 durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren . 0,49 % } 6,08 %
 unlöslichen . . . . 5,59 % }
 Gesamt-N 11,77 %.

Nach dem früher Gesagten ist der erst durch Formolkochsalzlösung extrahierbare Stickstoffanteil dem durch Kochsalzlösung extrahierbaren, und zwar dessen durch Formol nicht fällbaren Anteile zuzurechnen, so daß die korrigierten Werte wie folgt lauten würden:

In Kochsalzlösung löslichen N
 durch Formol fällbar . . . . 2,60 % } 6,18 %
 " " nicht fällbar . . . . 3,58 % }
in Kochsalzlösung unlöslichen N . . . . . . 5,59 %
 Gesamt-N 11,77 %

Versuch 9.

Abermals ein aus einer kochsalzdurchspülten Leber bereitetes Pulver.

a) 0,3474 g Pulver, entsprechend 0,2634 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Kochsalzextrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0330 g und enthält 0,00595 g N. Das Filtrat enthält 0,01106 g N.

Hierauf wird das Pulver mit Formollösung extrahiert. Der Extrakt enthält 0,00096 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,0906 g und enthält 0,0133 g N.

Das Pulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren . . . . 2,26 %

" " nicht fällbaren . . . . 4,57 %

durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N

durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren . 0,37 %

unlöslichen . . . . 5,05 %

Gesamt-N 12,25 %

b) 0,2134 g Pulver, entsprechend 0,1618 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,2000 g und enthält 0,003 66 g N. Das Filtrat enthält 0,006 76 g N.

Die übrigen Bestimmungen sind verloren gegangen.

Die Mittelwerte, soweit sie berechnet werden können, ergeben:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren . . . . 2,26 %

" " nicht fällbaren . . . . 4,19 %

durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N

durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren . 0,37 %

unlöslichen . . . . 5,05 %

Gesamt-N 11,87 %

oder nach der entsprechenden Korrektur:

in Kochsalzlösung löslichen N

durch Formol fällbaren . . . . 2,26 % } 6,82 %

" " nicht fällbaren . . . . 4,56 % }

in Kochsalzlösung unlöslichen N . . . . . . 5,05 %

Gesamt-N 11,87 %

Versuch 10.

a) 0,2644 g eines aus einer kochsalzdurchspülten Leber bereiteten Pulvers, entsprechend 0,2073 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0284 g und enthält 0,006 22 g N. Das Filtrat enthält 0,006 29 g N.

Hierauf wird das Pulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert. Der Extrakt enthält 0,001 437 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,0822 g N und enthält 0,011 06 g N.

Das Pulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren . . . . 3,00 %

" " nicht fällbaren . . . . 3,04 %

durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N

durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren . 0,69 %

unlöslichen . . . . 5,34 %

Gesamt-N 12,07 %

b) 0,3480 g Pulver, entsprechend 0,2728 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert; der Extrakt mit 2% Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0380 g und enthält 0,0087 g N. Das Filtrat enthält 0,00854 g N.

Hierauf wird das Pulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert. Der Extrakt enthält 0,0019 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,1064 g und enthält 0,01568 g N.

Das Pulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N	
durch Formol fällbaren	3,23%
" " nicht fällbaren	3,13%
durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren	0,70%
unlöslichen	5,75%
Gesamt-N	12,81%

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

durch NaCl-Lösung extrahierbaren N	
durch Formol fällbaren	3,11%
" " nicht fällbaren	3,08%
durch NaCl-Lösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren	0,69%
unlöslichen	5,54%
Gesamt-N	12,42%

oder nach der entsprechenden Korrektur:

in NaCl-Lösung löslichen N		
durch Formol fällbaren	3,11%	6,88%
" " nicht fällbaren	3,77%	
in NaCl-Lösung unlöslichen N	5,54%	
Gesamt-N	12,42%	

Diese Versuche ergeben demnach, was eigentlich aus den früheren Versuchen schon erschlossen wurde, daß tatsächlich bei Extraktion von Organzellen mit physiologischer Kochsalzlösung in letzterer wenigstens zwei verschiedene Eiweißkörper gelöst werden, die sich durch ihr verschiedenes Verhalten gegen Formol voneinander unterscheiden, und es erhebt sich nun die Frage, ob nicht noch mehrere Arten von Eiweißkörpern, durch andere Reaktionen voneinander unterschieden, in dem Kochsalzauszug nachweisbar sind.

Vor mehreren Jahren hat bereits Pohl[1]) bei der Extraktion von Organzellen mit physiologischer Kochsalzlösung, wo-

[1]) Über Organeiweiß. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 381, 1906.

bei er freilich nicht mit Organpulvern, sondern mit Organbrei arbeitete, in dem Extrakt einen Eiweißkörper nachgewiesen, der einige ganz auffallende Reaktionen zeigte. Er koagulierte nämlich schon bei 38 bis 39° und wurde außerdem durch Zusatz geringer Mengen 0,1 bis 0,2 %iger Essigsäure ausgefällt.

Es handelte sich nun darum, festzustellen, in welcher Beziehung dieser Eiweißkörper zu meinem formolfällbaren steht.

Zu diesem Behufe nahm ich eine nicht gewogene Menge Leberpulver, extrahierte sie durch 24 Stunden mit physiologischer Kochsalzlösung, filtrierte und teilte das Filtrat in drei gleiche Portionen. In der ersten wurde der Pohlsche Eiweißkörper durch einige Tropfen 0,1 %iger Essigsäure ausgefällt, die zweite Portion wurde zur Ausfällung desselben auf 24 Stunden in einen auf 39° erwärmten Thermostaten gestellt und in der dritten wurde ein Niederschlag durch Zusatz von 2 % Formol erzeugt.

Alle drei Niederschläge wurden dann auf ein gewogenes Filter gebracht, der erste mit stark verdünnter Essigsäure, der zweite mit Kochsalzlösung, der dritte mit 2 %iger Formollösung erst eiweißfrei, dann alle chlorfrei gewaschen und zur Gewichtskonstanz getrocknet und jeder von ihnen zu einer Stickstoffbestimmung verwendet. Die Resultate waren folgende:

Versuch 11.

1. Der Essigsäureniederschlag wog 0,0262 g und enthielt 0,005 74 g N.

2. Der durch Aufenthalt bei 39° entstandene Niederschlag wog 0,0268 g und enthielt 0,0056 g N.

3. Der durch Formol erzeugte Niederschlag wog 0,0264 g und enthielt 0,005 74 g N.

Versuch 12.

Bei Verwendung eines anderen Leberpulvers:

1. Der Essigsäureniederschlag wog 0,0178 g und enthielt 0,003 64 g N. Das Filtrat von demselben enthielt 0,0049 g N.

2. Der durch Aufenthalt bei 39° entstandene Niederschlag wog 0,0176 g N und enthielt 0,003 62 g N, das Filtrat von demselben 0,0049 g N.

3. Der durch Formol erzeugte Niederschlag wog 0,0178 g und enthielt 0,003 64 g N.

Aus diesen beiden, vollständig gleichförmigen Versuchen geht demnach hervor, daß der Pohlsche Eiweißkörper mit meinem formolfällbaren identisch ist, und daß somit in der Kochsalzlösung nur zwei verschiedene Eiweißkörper gelöst sind. Freilich hätte der Formolniederschlag um eine Kleinigkeit

schwerer sein sollen, entsprechend dem Eintritte von Methylengruppen in das Eiweißmolekül, allein diese Gewichtsdifferenz liegt bei den verwendeten kleinen Mengen innerhalb der Fehlergrenzen.

Pohl versuchte auch durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat noch eine weitere Scheidung innerhalb seines Eiweißkörpers in einzelne Individuen vorzunehmen und erhielt bei 25-, 33- und 50 $^0/_0$iger Sättigung mit Ammonsulfat verschieden starke Fällungen, die stärkste dem sog. Pseudogobulin entsprechend, doch hält er es selbst nicht für zweckmäßig, mehrere Organglobuline zu unterscheiden.

Es hat dann Orglmeister[1]) auf Anregung Pohls die fraktionierte Ammonsulfatfällung der Organplasmen, wie Pohl den Auszug des Organbreies mit physiologischer Kochsalzlösung nannte, verwendet, um eventuelle Unterschiede im Plasma normaler und verschieden pathologisch veränderter Organe aufzudecken. Da es sich ihm hauptsächlich darum handelte, normale und entzündete Organe miteinander zu vergleichen, beschränkte er seine Untersuchungen auf Kaninchennieren, da dieselben der Erzeugung einer experimentellen Entzündung am leichtesten zugänglich sind, und bestimmte in deren Plasma den Gesamteiweißgehalt und die Menge des bei 33 und 50 $^0/_0$iger Sättigung mit Ammonsulfat fällbaren Eiweißes. Er fand bei normalen Nieren ziemlich konstante Werte für die einzelnen Fraktionen, speziell für die Fällung bei Halbsättigung mit Ammonsulfat ca. die Hälfte, für die Fällung bei 33 $^0/_0$iger Sättigung ca. 6 $^0/_0$ der Gesamteiweißmenge des Organplasmas. Wenn, was ja wahrscheinlich ist, der mit verdünnter Essigsäure fällbare, resp. der bei 39 ^{0} koagulierbare Eiweißkörper mit dem bei Halbsättigung mit Ammonsulfatlösung ausfallenden identisch ist, so stimmen die von Orglmeister gefundenen Werte für die normale Kaninchenniere mit den von mir nach meiner Methode für die normale Kaninchenleber gefundenen nicht ganz überein, indem ich in den Versuchen 8, 9, 10 für den formolfällbaren Eiweißkörper, der ja, wie gezeigt, mit dem Pohlschen Eiweißkörper identisch ist, 42,06 $^0/_0$ resp. 36,0 $^0/_0$ resp. 45,20 $^0/_0$ des Gesamteiweißgehaltes des Kochsalzextraktes fand, also erstens geringere und zweitens nicht so konstante Bruchteile konstatierte.

[1]) Änderung des Eiweißbestandes der Niere durch Entzündung. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 3, 219, 1906.

Meine Versuchsanordnung aber, bei der ja eine quantitative Extraktion der gesamten Menge löslicher Eiweißkörper aus den Zellen stattfindet, gestattet noch eine Berechnung des Verhältnisses derselben zur Menge der in den Zellen enthaltenen unlöslichen Eiweißkörper, und dieses ist in meinen Versuchen ein ziemlich konstantes, nämlich 55,40% resp. 57,46 resp. 52,51%. Aber auch bei Berechnung des Verhältnisses der drei Eiweißkörper zueinander, des löslichen formolfällbaren zum löslichen formollöslichen zum unlöslicheu, ergaben sich in den 3 Versuchen ziemlich konstante Werte, nämlich 25,04 : 30,36 : 44,60 resp. 19,04 : 38,42 : 42,54 resp. 22,09 : 30,42 : 47,49.

Orglmeister untersuchte ferner die Nieren bei verschiedenen pathologischen Verhältnissen und fand bei Hunger eine normale Menge der Globulinfraktion, die aber fast vollständig schon bei 33% Ammonsulfatsättigung ausfiel, bei Stauung, Anämisierung und Entzündung eine mehr oder minder starke Vermehrung der Globulinfraktion.

Diese Befunde sowie meine eingangs ausgeführten Anschauungen veranlaßten folgende Überlegungen.

Wenn es gestattet ist, die Formolfällbarkeit als Reaktion auf Organeiweiß anzusprechen, dann müssen wir nicht nur den in den Versuchen ungelöst gebliebenen Anteil der Zellen, sondern auch den in Lösung gegangenen, aber durch Formol fällbaren Eiweißkörper als Organeiweißkörper entsprechen und nur den in Lösung gegangenen, durch Formol nicht fällbaren, Eiweißkörper als nicht in die Organisation der Zelle gehörig ansehen. Von der Anschauung ausgehend, daß das Nahrungseiweiß, in seine Bausteine zerlegt, im Körper zirkuliert und erst in den einzelnen Zellen wieder diese Bausteine zu Eiweiß aufgebaut werden, könnten wir uns vorstellen, in den drei isolierten Eiweißarten eine Stufenleiter des Aufbaues zu Organeiweiß vor uns zu haben. Der zunächst aus den Bausteinen sich bildende Eiweißkörper hätte noch die Eigenschaften der löslichen Eiweißkörper: Löslichkeit in Kochsalzlösung, Nichtfällbarkeit durch Formol. Bei seinem Übergang zu Organeiweiß tritt zunächst die Fällbarkeit durch Formol auf, und schließlich, zum typischen Organeiweiß geworden, verliert er auch die Löslichkeit in Kochsalzlösung. Man könnte sich dann vorstellen, daß die durch Stauung, Anämisierung oder Entzündung in

ihrer synthetischen Fähigkeit geschädigten Zellen diesen Eiweißaufbau nicht mehr bis zur letzten Stufe zu bewerkstelligen imstande sind, sondern derselbe auf der mittleren Stufe stehen bleibt.

Die Resultate Orglmeisters hätten dann nichts Überraschendes an sich, was sie für ihn, der von einer anderen Anschauung ausgegangen war, tatsächlich hatten.

Was seine Resultate an Nieren hungernder Tiere betrifft, so erhielt er, wenn man von der Änderung der Fällbarkeitsgrenzen durch Ammonsulfat absieht, normale Werte.

Nun eignen sich vielleicht Versuche an Nieren nicht so gut zum Studium der durch Hunger bedingten Veränderungen, weshalb ich Versuche an Lebern, in die ja die Nahrungsstoffe in erster Linie gelangen, vornahm. Ich wählte zu diesen Versuchen Hunde, da bei Kaninchen wegen des stets gefüllten Darmes auch während mehrtägigen Hungerns eine weitere Resorption von Nahrungsstoffen nicht auszuschließen ist. Um ein brauchbares Vergleichsobjekt zu haben, nahm ich zwei kleine Hunde derselben Rasse (Rattler). Dieselben wurden durch 2 Tage zunächst ausschließlich mit gekochtem Fleisch gefüttert, dann der eine, als Kontrolltier dienende, Hund verblutet, während der andere durch weitere 3 Tage vollständig hungerte und nach Verlauf dieser Zeit ebenfalls verblutet wurde.

Die Lebern wurden in der bekannten Weise mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, zu einem Pulver verarbeitet und in der mehrfach beschriebenen Weise untersucht.

Versuch 13.

Hund I, 2700 g schwer, am 27. VI. verblutet.

0,3246 g Leberpulver gaben einen Trockenrückstand von 0,2534 g = 78,07 %.

a) 0,3124 g Leberpulver, entsprechend 0,2439 g Trockensubstanz, werden mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0130 g und enthält 0,00308 g N.

Das Filtrat enthält 0,0072 g N.

Hierauf wird das Leberpulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert.

Der Extrakt enthält 0,00126 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,1808 g und enthält 0,0245 g N.

Das Pulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	1,26 %
„ „ nicht fällbaren	3,04 %
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren .	0,51 %
unlöslichen	9,67 %
Gesamt-N	14,48 %

b) 0,2428 g Leberpulver, entsprechend 0,1896 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0105 g und enthält 0,00252 g N.

Das Filtrat enthält 0,00588 g N.

Hierauf wird das Leberpulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert.

Der Extrakt enthält 0,001218 g N.

Der ungelöst gebliebene Rest des Pulvers wiegt 0,1387 g und enthält 0,01946 g N.

Das Pulver enthält demnach, auf Trockenrückstand berechnet:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	1,33 %
„ „ nicht fällbaren	3,10 %
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren .	0,64 %
unlöslichen	10,26 %
Gesamt-N	15,33 %

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen beträgt:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	1,44 %
„ „ nicht fällbaren	3,07 %
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren .	0,57 %
unlöslichen	9,96 %
Gesamt-N	15,04 %

oder nach entsprechender Korrektur:

in NaCl-Lösung löslichen N

durch Formol fällbaren	1,44 %	5,08 %
„ „ nicht fällbaren	3,64 %	
unlöslichen N	9,96 %	
Gesamt-N	15,04 %	

Hund II, 4200 g schwer, bis zum 27. VI. gefüttert, dann bis zum 30. VI. hungernd, am 30. VI. verblutet 3800 g schwer.

0,3572 g Leberpulver geben 0,2898 g Trockensubstanz = 81,13 %.

a) 0,3098 g Leberpulver, entsprechend 0,2513 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2 % Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,008 g und enthält 0,002 g N.

Das Filtrat enthält 0,0063 g N.

Hierauf wird das Pulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert.

Der Extrakt enthält 0,00126 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,2898 g und enthält 0,02828 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	0,70%
" " nicht fällbaren	2,50%
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren	0,50%
unlöslichen	11,25%
Gesamt-N	14,95%

b) 0,2212 g Leberpulver, entsprechend 0,1795 g Trockensubstanz, werden mit Kochsalzlösung extrahiert, der Extrakt mit 2% Formol gefällt.

Der entstandene Niederschlag wiegt 0,0060 g und enthält 0,00154 g N.

Das Filtrat enthält 0,0049 g N.

Hierauf wird das Pulver mit Formolkochsalzlösung extrahiert.

Der Extrakt enthält 0,00098 g N.

Der unlösliche Rest des Pulvers wiegt 0,1260 g und enthält 0,00203 g N.

Das Leberpulver enthält daher, auf Trockensubstanz berechnet:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	0,85%
" " nicht fällbaren	2,73%
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren	0,54%
unlöslichen	11,42%
Gesamt-N	15,54%

Das Mittel aus beiden Parallelversuchen ergibt:

durch Kochsalzlösung extrahierbaren N

durch Formol fällbaren	0,77%
" " nicht fällbaren	2,61%
durch Kochsalzlösung nicht extrahierbaren N	
durch Formolkochsalzlösung extrahierbaren	0,52%
unlöslichen	11,38%
Gesamt-N	15,28%

oder nach entsprechender Korrektur:

in NaCl-Lösung löslichen N

durch Formol fällbaren	0,77%	
" " nicht fällbaren	3,13%	3,90%
unlöslichen N	11,38%	
Gesamt-N	15,28%	

Aus diesem Versuche geht zunächst hervor, daß die Menge der in den Leberzellen des Hundes enthaltenen löslichen Eiweißkörper eine bedeutend geringere als die in den Leberzellen des Kaninchens ist. Während sie bei Kaninchen beiläufig 50 %, also die Hälfte des Gesamteiweißgehaltes der Zellen betrug, repräsentiert sie beim Hunde nur ca. 33 %, also $^1/_3$ des Gesamteiweißgehaltes. Der geringere Wert ist sowohl durch einen Mindergehalt an durch Formol fällbarem als nichtfällbarem Eiweiß bedingt.

Dieser Versuch zeigt aber ferner eine weitere Abnahme des löslichen Eiweißes, und zwar wieder beider Portionen, in der Leber eines hungernden Hundes.

Sollten weitere, gleichartige Versuche gleichsinnig ausfallen, so würden dieselben eine wesentliche Stütze für die Anschauung geben, daß wir tatsächlich in den drei verschiedenen, in der Zelle nachgewiesenen Eiweißarten eine kontinuierliche Stufenleiter in der Umwandlung der zugeführten löslichen in Organeiweißkörper vor uns haben.

Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

In den Organzellen ist eine beträchtliche, bei verschiedenen Tierarten verschieden große, Menge löslichen Eiweißes enthalten, das nach seinem Verhalten gegen verdünnte Formollösung und noch durch andere Eigenschaften (Pohl) in zwei verschiedene Eiweißkörper geschieden werden kann. Der eine, durch Formol fällbare, könnte noch den „Organeiweißkörpern" zugerechnet werden. Bei Ausspülung eines Organs mit physiologischer Kochsalzlösung gehen diese löslichen Eiweißkörper, offenbar wegen der erhaltenen Semipermeabilität der Zellwände, nicht aus den Zellen heraus. Erst wenn die Zellwände zerstört werden, was zum größten Teile durch Zertrümmerung derselben bei Verarbeitung der Organe zu einem Brei, noch mehr zu einem Pulver geschieht, können diese Eiweißkörper durch Kochsalzlösung extrahiert werden. Aber auch bei Abtötung der Zellwände, z. B. durch Formol, kann das lösliche Eiweiß, in diesem Falle natürlich nur der durch Formol nicht fällbare Anteil, austreten. Aber selbst bei längerer Ausspülung mit physiologischer Kochsalzlösung allein werden die Zellwände in ihrer Vitalität geschädigt und lassen geringe Mengen der löslichen

Eiweißkörper in die Spülflüssigkeit austreten, so daß die ablaufende Spülflüssigkeit eigentlich nie eiweißfrei wird. Daraus geht auch hervor, daß, wenn man die Gesamtmenge der löslichen Eiweißkörper in der Zelle erhalten will, man die Ausspülung nicht zu lange fortsetzen darf. Will man aus einem Organpulver die Gesamtmenge der löslichen Eiweißkörper extrahieren, so ist es nötig, nach Extraktion der größten Menge derselben den noch erhaltenen Rest der Zellwände durch Formol abzutöten.

Die drei in den Zellen nachgewiesenen Eiweißkörper, der lösliche durch Formol nicht fällbare, der lösliche durch Formol fällbare und der unlösliche durch Formol fällbare, scheinen, wofür der Hungerversuch spricht, drei aufeinanderfolgenden Stadien bei der Umwandlung des Nahrungseiweißes in Organeiweiß zu entsprechen.

Dementsprechend dürfte wohl der starre Unterschied zwischen Gerüsteiweiß und zirkulierendem Eiweiß, wie ihn Krukenberg statuierte, nicht in vollem Umfange aufrechtzuerhalten sein.

Über die Zuckerbildung der Froschleber.

Von

Ivar Bang.

(Eingegangen am 24. August 1913.)

In einer vor kurzem erschienenen Abhandlung ist Lesser[1]) gegen meine Untersuchungen über die Zuckerbildung der Froschleber[2]) aufgetreten, da er von mir verschiedene Ergebnisse erzielt hat. Da eine Diskussion dieser schwierigen Probleme zu der Aufklärung der Verhältnisse der Zuckerbildung beitragen kann, will ich im folgenden etwas ausführlicher hierauf eingehen.

Zuerst betreffs der Methodik. L. wirft mir vor, daß ich den Zucker und nicht das Glykogen bestimmt habe. Da es aber möglich, ja zu einem gewissen Grade wahrscheinlich ist, daß die Leber außer Glykogen auch andere Muttersubstanzen des Zuckers enthält, ist es wohl richtiger, den ganzen gebildeten Zucker zu bestimmen. Eine spätere Frage wird es dann sein, das Verhältnis zwischen Zucker und Glykogen zu entscheiden. Um mit L. zu diskutieren, muß ich im folgenden von dieser Differenz unserer Methodik absehen.

L. findet weiter, daß meine Methode der Zuckerbestimmung keinen Vorteil bedeutet. Ich untersuchte die einzelnen Leberlappen für sich, L. dagegen 6 bis 12 Lebern auf einmal und erzielte dabei Durchschnittswerte, die gut übereinstimmten, während ich Differenzen zwischen den einzelnen Leberlappen bis zu 48 $^0/_0$ fand. Meine Methode liefert also die Erkenntnis der physiologischen Variationsbreite der Zuckerbildung, die L.s nur den Durchschnittswert, den selbstverständlich auch meine Versuche (30 Bestimmungen, vgl. Tab. II und IV) ergeben.

[1]) Lesser, diese Zeitschr. 52, 471, 1913.

[2]) Bang, ebenda 49, 40 und 80, 1913.

Betreffs der Zuckerbildung der überlebenden Froschleber haben L.s Versuche das Resultat geliefert, daß 1. die intakte Leber während 4 Stunden keinen Zucker bildet, während die zerstoßene Leber als Brei viel Zucker ergibt, und daß 2. die Blutdiastase hierbei nicht in Betracht kommt, selbst wenn die Lebern bluthaltig sind. Meine Folgerungen waren: die überlebende Leber bildet im Laufe von 8 Stunden etwas, aber wenig Zucker; als Brei bildet sie viel Zucker, wenn bluthaltig. Wird aber das Blut vollständig entfernt, so bildet die Leber nicht mehr Zucker als Brei wie intakt, überlebend. L. hat nun teils neue Beweise für seine Auffassung geliefert, teils hat er meine Versuche kritisiert.

Die Beweise bestehen darin, daß Versuche mit Froscheiern als Brei denselben Glykogenumsatz mit und ohne Gegenwart von Blut liefern. Folglich, sagt L., muß sich die Leber ebenso verhalten. Nun ist aber das Ei ein einzelliger Organismus, der sein unabhängiges Leben lebt, während die Leber mit den übrigen Zellkolonien des Tieres in regem Verkehr steht, der besonders betreffs Zuckerbildung durch innere Sekretion und Nervenverbindungen sehr fein reguliert ist. Man kann demzufolge unmöglich den Mechanismus der Zuckerbildung von beiden ohne weiteres identifizieren. Auf der anderen Seite enthält das Blut viel Diastase. Warum sollte diese nicht das Leberglykogen verzuckern, wenn nach Zerstörung der Leberzellen dazu die Gelegenheit vorhanden war? Meine zahlreichen Versuche hierüber zeigen auch unzweideutig, daß dies tatsächlich zutrifft (Tab. VI, VII).

Selbst wenn nun diese Auffassung L.s augenscheinlich falsch ist, könnte doch seine Folgerung, daß die Leberdiastase erst nach Zerstörung der Leberzellen aktiv wird, richtig sein. Hierüber hat L. nur 3 Versuche angestellt. Die Tiere wurden von der Bauchvene aus perfundiert, bis die Ringerlösung farblos abfloß. Der Leberbrei lieferte viel Zucker, in den intakten Leberlappen war kein Glykogenumsatz zu finden. Dieser „einwandfreie" Beweis sagt doch nichts, indem ich gefunden und ausdrücklich bemerkt habe, daß die von der Aorta aus vollständig ausgewaschene Leber noch reichlich Blut enthalten kann, das nur durch Perfusion der Leberlappen direkt entfernt werden kann. Warum hat L. diese Fehlerquelle nicht berücksichtigt

und warum hat er keine Versuche mit Fusca, wo das Blut viel weniger Diastase enthält, gemacht?

Und daß die verschiedene Methodik unmöglich diese Differenzen erklären kann, zeigt folgender Versuch mit Esculenta, wo L.s Methodik befolgt wurde, nur wurde der Lappen Nr. 3 direkt perfundiert. Versuchsdauer 4 Stunden:

1. Ringerlappen 1,048 g — 0,0635 g Glykogen = **6,1**$^0/_0$.
2. Bluthaltiger Leberbrei 1,820 g — 0,080 g Glykogen = **4,4**$^0/_0$.
3. Blutfreier Leberbrei[1]) 1,623 g — 0,0909 g Glykogen = **5,6**$^0/_0$.

In dem bluthaltigen Leberbrei hat das Glykogen 28$^0/_0$, in dem blutfreien nur 8$^0/_0$ gegen die Ringerleber abgenommen.

Der springende Punkt der Diskussion bleibt doch folgendes Moment: Ist die überlebende Ringerleber wirklich lebendig und besitzt sie dieselbe Vitalität wie normalerweise im lebendigen Frosch? Die letzte Frage ist vorläufig unmöglich zu beantworten, dagegen kann man nicht bezweifeln, daß die Ringerleber lebendig ist. Inwieweit die Zuckerproduktion aber wie normal fortgeht — was hier allein interessiert —, ist schwer zu sagen. Nach L. soll die Sache sich so zu verhalten, daß die Leber während 4 Stunden ihre unveränderte Vitalität beibehält (L.s Versuchsdauer), nach 8 Stunden aber sind irreversible Änderungen eingetreten (meine Versuchsdauer). Diese Möglichkeiten haben nur dann Interesse, wenn die Zuckerproduktion dadurch beeinflußt wird. Nach L. trifft dies zu. Als Beweis für seine Folgerung führt L. 3 Versuche an. Nach Verweilen von 4 Stunden in Ringer ergab die Leber nur 1,6$^0/_0$ Glykogenumsatz, nach 8 Stunden aber 16 bis 18,5$^0/_0$. Ich habe nie eine so große Zuckerproduktion gefunden. Der Unterschied läßt sich zum Teil dadurch erklären, daß L.s Versuchstemperatur 5^0 höher als meine war. Ich habe weiter durch Untersuchung der osmotischen Verhältnisse der Milchsäure- und Zuckerbildung ebenso wie durch Vergleich überlebender bluthaltiger und blutfreier Leber (die eine übereinstimmende geringe Zuckerbildung zeigen) sehr zahlreiche Belege für die Vitalität meiner Leber geliefert. Besonders finde ich die Adrenalinversuche sehr beweisend, indem Adrenalin nur bei Ringer-

[1]) Enthält noch minimale Spuren von Blut. Die Leberbreie wurden mit 20 ccm Wasser versetzt.

leber, nicht bei Leberbrei wirksam war. Ich verweise endlich auf Overtons Versuche, der die Froschleber nach mehreren Tagen in Ringer bei 4° noch lebendig fand. Es liegt auch kein Grund vor, anzunehmen, daß die Leber nur 4, nicht aber 8 Stunden extra corpus überleben kann. Die Auffassung läßt sich nur so motivieren, daß die Oxybiose nach und nach unvollständig wird. L. hat aber bei Anoxybiose einen sehr großen Glykogenumsatz gefunden, was in meinen Versuchen nicht vorkommt. Es ist denkbar, daß die Leber überhaupt extra corpus sich anders verhält als in vivo. In diesem Falle müssen aber die Änderungen relativ schnell eintreten, und L.s Versuche sind dann ebenso wie die meinigen mit anormalen, aber noch lebendigen Lebern ausgeführt worden. Und diese Möglichkeit habe ich ausdrücklich in meiner Arbeit (und besonders die Bedeutung des Pankreas) hervorgehoben.

Daß die Lebern im Frühjahr nicht gut überleben, geht schon aus L.s eigenen Versuchen hervor, indem er hier einen bedeutenden Glykogenumsatz (überlebende bluthaltige Leber) fand. In dieser Zeit sind aber die Tiere selbst elend, weshalb ich keine Versuche mit solchen Lebern angestellt habe. Bekanntlich sind auch die Froschmuskeln im Frühjahr schlecht und überleben nur eine kurze Zeit. Diese Tatsachen sind offenbar L. ganz unbekannt gewesen.

Schließlich möchte ich gegen einige Angriffe L.s einige Worte äußern, obwohl die Sache eigentlich keine große Bedeutung besitzt.

L. glaubt, daß der bei meinen Versuchen in die Ringerlösung übergegangene Zucker „vielleicht" aus dem kleinen Teil des Glykogens herstammt, das in dem Bruchteil der Leberzellen sich befindet, der bei der Präparation zerstört wird. „Bei meiner Versuchsanordnung", sagt L., „liegt diese Größe in den Fehlergrenzen." In meinen Versuchen beträgt die durchschnittliche Zuckermenge in Ringer etwa 5 mg, was bei 10% Leberglykogen etwa 5 bis 10% des Glykogens entspricht (bei geringerem Glykogengehalt noch mehr), gleichgültig ob man wie ich 500 bis 800 mg Leber oder wie L. 6000 bis 12000 mg Leber verwendet. Die „Fehlerquelle" ist also ebenso groß in L.s Versuchen, indem hier etwa 10 mal so viele Leberzellen, wie in meinen Versuchen, zerstört werden. Tatsächlich ist

aber diese Möglichkeit nicht zutreffend, indem eine einfache Berechnung lehrt, daß bei Trennung der Leberlappen höchstens 10 mg Lebersubstanz pro Lappen zerstört werden können, oder im Maximum 2 $^0/_0$ des ganzen Leberlappens. L. hebt weiter hervor, daß bei meinen Alkoholversuchen (der alkoholbehandelte Leberbrei liefert sehr wenig Zucker) „dabei Glykogen herausgewaschen worden ist“. Er glaubt also annehmen zu dürfen, daß ich nicht die einfache analytische Arbeit auszuführen vermag, das Glykogen mit Alkohol niederzuschlagen und von der alkoholischen Lösung zu trennen!

Er glaubt weiter, daß man aus meinen Versuchen nicht entscheiden kann, ob während der Entfernung des Alkohols „eine merkliche diastasische Wirkung eingetreten ist“. Ich verstehe nicht, wie das Abfiltrieren (bzw. Abzentrifugieren) des Alkohols und eventuelles Trocknen zwischen Fließpapier eine diastatische Wirkung bedingen soll.

Umgekehrt wäre nach L. denkbar, daß das niedergeschlagene Glykogen vielleicht nicht völlig in Lösung gehen sollte und deswegen nicht verzuckert wurde. Bedenkt man, daß nur 50 bis 100 mg Glykogen in 10 bis 20 ccm Wasser vorliegen, die zudem fein verteilt sind, und daß der Versuch 8 bis 10 Stunden dauerte, während welcher Zeit die Flüssigkeit oft umgeschüttelt wurde, so ist eine solche Vorstellung absurd, um so mehr, als die alkoholbehandelten Lebern nach Zusatz von Kochsalz eine bedeutend größere Zuckerbildung aufwiesen als der Leberbrei selbst. Von diesen zahlreichen Versuchen spricht aber L. mit keinem Worte.

Über die Chlorbestimmung im Blute.

Von

Ivar Bang.

(Eingegangen am 24. August 1913.)

Vor kurzem haben Roger und Fritsch[1]) eine neue Methode zur Makro- und Mikrobestimmung des Chlors im Blute veröffentlicht, die eine Modifikation der Methode von meinem Schüler Larsson darstellt. Aber keine glückliche Modifikation! Ich habe nämlich gefunden, daß die Eisenmethode (Roger und Fritschs Verfahren) ebensowenig wie die sonst gebräuchlichen Reinigungsmethoden beim Harne die die Chlortitration störenden Körper beseitigen. Da nun dieselben Körper — gewiß in weit geringerer Konzentration — auch im Blute vorkommen, ist die Eisenmethode auch hier prinzipiell unrichtig. Und daß tatsächlich solche Körper sich im Blute geltend machen können, habe ich selbst gesehen. Deswegen benutze ich auch bei meiner Mikrochlormethode eine stark salpetersaure Salzlösung, um wie beim Harn nach Volhard nur die Chloride niederzuschlagen.

Übrigens möchte ich bemerken, daß die Kohle- (und auch meine Mikro-) Methode keineswegs „mehrere Stunden" erfordern, wie Roger und Fritsch glauben. Sie haben augenscheinlich unsere Methoden gar nicht probiert. Zwar ist das Kochen notwendig (etwas Chlor ist mit dem Eiweiß verbunden!), dagegen geht die Filtration der Kohlefällung bedeutend schneller als die der Eisenfällung.

---

[1]) Diese Zeitschr. 54, 53, 1913.

Antikritik gegen Hattas Kritik der Zuckerbestimmungsmethode von Bang.

Von

Ivar Bang.

(Eingegangen am 24. August 1913.)

Gegen **Hattas** Beurteilung meiner Methode I zur Zuckerbestimmung möchte ich folgendes bemerken:

1. Überall hat **Hatta** den prozentischen Fehler in den Vordergrund gestellt und meistens nicht den absoluten Fehler angeführt. Es ist ganz klar, daß bei Gegenwart von sehr wenig Zucker dieser Fehler sich unverhältnismäßig viel stärker geltend macht. Wenn meine Methode mit einem Durchschnittsfehler von $\pm$ 0,5 mg arbeitet, bedeutet dies bei 50 mg Zucker nur 1%, bei 5 mg aber 10% Differenz. Eine Methode, die bei der Bestimmung von 60 mg Zucker 59,5 mg Zucker liefert und bei 5 mg 4,5 mg, ist doch eine brauchbare, ja annähernd exakte Methode.

2. Wenn **Hatta** die Selbstreduktion der Kupferlösung als eine schwerwiegende Fehlerquelle bei meiner Methode befunden hat, so stimmt dies nicht mit den Ergebnissen früherer Forscher überein. Die Ursache für **Hattas** Befunde ist nun leicht zu erfahren. Er kocht die Kupferlösung ohne einen Zusatz. Ich habe vorgeschrieben, daß man zu 50 ccm Kupferlösung 10 ccm Zuckerlösung setzen soll. Bei Blindversuchen muß man folglich 10 ccm Wasser ohne Zucker zusetzen, sonst wird die Kupferlösung während des Kochens konzentriert und ihr Titer verändert. Es ist leicht, methodologische Fehler zu finden, wenn man die Vorschriften nicht befolgt.

3. Selbst wenn **Hattas** Auffassung betreffs dieser Fehlerquelle richtig wäre, kommt dieselbe doch nicht in Betracht. Die Kupferwerte sind überall empirisch gefunden. Es ist dann durchaus gleichgültig, ob diese Werte dem Zucker allein oder Zucker + Selbstreduktion entsprechen, wenn die Werte konstant sind. Stimmen also die Zuckerwerte mit den Kupfer- und Hydroxylaminzahlen gut überein, so ist die Methode gut, stimmen sie nicht, so ist die Methode schlecht. Nach den Angaben vieler Forscher — um nicht von mir selbst und meinen Schülern zu sprechen — stimmen die Werte gut, und **Hattas** eigene Untersuchungen sind nicht geeignet, diese Auffassung zu erschüttern.

Bemerkungen zu der Mitteilung von J. Meisenheimer, St. Gambarjan und L. Semper „Anreicherung des Invertasegehalts lebender Hefe".

(II. Mitteilung über Invertase in dieser Zeitschr. 54, 122, 1913.)

Von

L. Lichtwitz.

(Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Göttingen.)

(Eingegangen am 11. September 1913.)

Meisenheimer, Gambarjan und Semper beschäftigen sich in der genannten Mitteilung mit Versuchen, die ich unter dem Titel „Über Fermentlähmung" publiziert habe[1]). Die Verfasser kommen zu Ergebnissen, die den meinigen gerade entgegengesetzt sind. Sie sind in Übereinstimmung mit Euler und Johansson[2]), zu deren Arbeit ich bisher das Wort nicht ergriffen habe, weil, wenn ich recht verstanden habe, die Autoren noch in einer späteren Mitteilung auf meine Versuche zurückkommen wollen.

Ich habe festgestellt, daß Hefe, die in invertzuckerhaltigen Lösungen gewachsen ist, weniger Invertase oder geringere invertierende Kraft besitzt, als in Rohrzuckerlösung gezogene Hefe, und daß die Schwächung der Invertasewirkung abhängig ist von der Invertzuckerkonzentration der Nährlösung, so daß

ein Invertzuckergehalt von	eine Erniedrigung der Reaktionskonstante auf
4 %	2/3
10 %	1/4
20 %	1/15 bis 1/20
50 %	1/40

gegenüber der Reaktionskonstante der Rohrzuckerhefe bewirkt.

Die Angabe Meisenheimers, daß die Hemmung der Invertase in meinen Versuchen bei 4 % noch nicht bemerkbar, bei 8—10 % schon vollständig ist, ist also ganz unrichtig. Auch in den bald zu besprechenden Gärversuchen, die ich angestellt habe, ist die Zunahme der Inver-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 78, 128, 1912.

[2]) Ebenda 84, 97, 1913.

sionshemmung mit steigender Invertzuckerkonzentration deutlich und gesetzmäßig und zudem aus den Kurven ohne große Mühe zu ersehen.

Die Messung des Gärungsverlaufs in meinen Kulturversuchen ergab eine starke Verlangsamung in den Lösungen, die Rohrzucker und Invertzucker zusammen enthielten. Diese Verlangsamung setzte plötzlich, mit einem Knick in der Kurve des Gewichtsverlustes ein. Die Analyse dieser Erscheinung durch große Versuchsreihen ergab, daß der Invertzucker mit normaler Geschwindigkeit vergoren wurde, und daß der Knick in der Kurve genau der Kohlensäuremenge entsprach, die von dem Invertzucker geliefert werden konnte. Die weitere Vergärung erfolgte dann mit konstant bleibender geringerer Geschwindigkeit, die nur die Folge einer langsameren Invertierung sein konnte.

Ich habe mich aber nicht damit begnügt, wie Meisenheimer, Gambarjan und Semper wohl infolge ungenauen Lesens meiner Mitteilung angeben, aus dem Verlauf der Gärung einen Rückschluß auf die Invertierung zu ziehen, sondern ich habe den Verlauf der Inversion selbst verfolgt, und zwar nicht, wie die Verfasser wieder irrtümlich schreiben, durch polarimetrische Bestimmung, sondern auf dem einzig möglichen Wege der Analyse des reduzierenden Zuckers. Diese Versuche haben ergeben, daß in einer Rohrzucker und Invertzucker enthaltenden Nährlösung die wachsende Hefe erst den Invertzucker vergärt und dann mit einer Geschwindigkeit, die gegenüber der in reiner Rohrzuckerlösung erheblich verlangsamt ist, invertiert, so daß in einer solchen Kultur nach Vergärung des Invertzuckers eine wesentliche Anhäufung von Invertzucker gar nicht zustande kommt. Glucose und Fructose allein wirken ebenso wie Invertzucker.

Auf die Deutung der durch diese Versuche festgestellten Tatsachen einzugehen ist im Rahmen dieser Richtigstellung der Kritik Meisenheimers nicht erforderlich.

Meisenheimer, Gambarjan und Semper haben (wie vor ihnen Euler und Johansson) gesehen, daß Hefe, die in Zuckerlösungen hineingebracht wird und in ihnen einige Zeit verweilt, an invertierender Kraft zunimmt. Eine Vermehrung der Hefe erfolgt in diesen Versuchen nicht, da ihre Menge von Anfang an weit größer ist, als eine Aussaat in einer Kultur dieses Volumens erreichen kann. Es findet aber nicht nur keine Vermehrung statt, sondern sogar ein reichlicher Untergang von Hefezellen, eine Autolyse, kenntlich an einer Abnahme der Hefemenge, einem schleimigen Aussehen der Flüssigkeit (S. 126) und gelegentlich sogar an einem unangenehmen Geruch (S. 143). Unter diesen Versuchsbedingungen trat die von mir beobachtete Fermentlähmung durch Invertzucker nicht auf. Das ist weniger wunderbar, als daß man sie überhaupt erwartet hat. Wir wissen, daß bei einem großen Überschuß an Hefe die Invertierung ganz außerordentlich rasch verläuft, so daß die Rohzuckerlösung sehr bald beträchtliche Mengen Invertzucker enthält, während in den oben kurz referierten Kulturversuchen bei Gegenwart von Rohrzucker allein Inversion und Gärung ungefähr gleichen Schritt halten, so daß eine Invertzuckerkonzentration,

die störend auf die Invertase einwirken könnte, gar nicht erreicht wird. Außerdem aber ist es sehr fraglich und jedenfalls gar nicht sichergestellt, daß es sich in den Versuchen von Meisenheimer und seinen Mitarbeitern um Vorgänge in der lebenden oder in der unversehrten Hefe handelt. Die Zunahme an Invertase in den Versuchen Meisenheimers und Eulers beruht vielleicht auf einem ähnlichen Mechanismus, wie ihn E. J. Lesser[1]) an der Leber gefunden hat. Dort tritt der Glykogenschwund nach der Zerstörung der Leberzellen in viel größerem Umfange ein als bei intakten Zellen, vermutlich weil Ferment und Substrat, die sich Lesser in der Zelle getrennt denkt, in vermehrtem Maße zusammen kommen.

Man sollte die Vorgänge in dem autolysierenden Gemisch Meisenheimers mit den Prozessen in meinen Kulturversuchen ebensowenig miteinander vergleichen wie das normale physiologische Geschehen in einem lebenden Organ mit dem wüsten Durcheinander bei seiner Autolyse.

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1918, 341.

Bemerkungen zu A. J. Kluyvers Mitteilung über die Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen.

Von

P. Lindner.

(Eingegangen am 20. August 1913.)

In Bd. 54, Heft 5/6 dieser Zeitschrift weist Herr Kluyver nach, daß die Kahlbaumsche Maltose, die zu den Assimilationsversuchen von Rose, Saito und mir Verwendung gefunden, ziemlich stark mit N-haltigen Beimengungen verunreinigt ist, und er hält es für sehr wahrscheinlich, daß diese Verunreinigungen es gewesen sind, die der Maltose gegenüber der Glucose zu einer deutlichen Superiorität verholfen haben. In gereinigter Kahlbaumscher Maltoselösung wurde die Maltose ebensowenig assimiliert wie Glucose bei Verwendung von Asparagin als N-Quelle.

Herrn Kluyver ist entgangen, daß ich bereits im vorigen Jahre in einem Eigenbericht über meinen Vortrag in Freiburg, „Neuere Ergebnisse bei Assimilationsversuchen mit verschiedenen Hefen und Pilzen“, von der Verunreinigung der Kahlbaumschen Maltose mit N-Verbindungen unterrichtet war (Zeitschr. f. angew. Chem. 1912, Heft 23, S. 1175, desgl. in der Chem.-Zeitg. 1912, Nr. 68, S. 638), jedoch die Verunreinigung für zu gering hielt, als daß sie das verhältnismäßig kräftige Wachstum der Mikroben in den sonst N-freien Lösungen allein ausgelöst haben sollte. Bei den Versuchen, die Assimilierbarkeit des freien NH_3 durch die Hefenzelle nachzuweisen, bediente ich mich jedoch statt der Maltose, obwohl ich sie für die bestassimilierbare Zuckerart hielt, doch lieber des Alkohols

als C-Quelle, da hier eine N-Beimengung wegfiel. Für die Luftstickstoff-Assimilationsversuche schien mir die Verwendung N-haltiger Maltose als C-Quelle sogar günstig, nachdem Zikes und Stahel die fördernde Wirkung kleiner Mengen von N-Verbindungen in der Nährlösung für die Assimilation des Luftstickstoffs dargetan zu haben glaubten. Auf die Notwendigkeit, auch mit gereinigter Maltose Kontrollversuche zu machen, wurde ich hingewiesen durch die von einem meiner Schüler, Herrn Ippen, erzielten Befunde bei Vergleichskulturen verschiedener Hefen in Maltose- und alkoholischen Lösungen. Während in Maltoselösung die mutmaßlichen Luftstickstoffsammler einigermaßen kräftig angingen, versagten sie in der gleichen N-freien Minerallösung + Alkohol oder wuchsen nur minimal, trotzdem Alkohol in Verbindung mit einer geeigneten N-Quelle für sie einen guten Nährstoff abgibt (Wochenschr. f. Brauerei 1912, Nr. 1). Mit einer allerdings nur geringen Menge gereinigter Maltose, die mir mein Kollege Dr. Stockhausen aus Kahlbaumscher Maltose bereitete, wurden zunächst Parallelversuche mit der Kombination Harnstoff-Glucose und Harnstoff-Maltose gemacht, um zu sehen, ob auch jetzt die letztere Kombination wieder wie in früheren Versuchen kräftigere Ernten gab als erstere. Der Erfolg war jetzt der, daß Glucose und Maltose gleichwertig erschienen. Jetzt wurde ich stutzig und befürchtete, daß auch die Luftstickstoffassimilation durch Hefen ein Irrtum sein könnte. Herr Dr. F. Naumann stellte sich mir Ende vorigen Jahres zur Verfügung, um einen möglichst exakten quantitativen Versuch auszuführen, bei dem den mutmaßlichen Luftstickstoffsammlern reine Glucose in N-freier mineralischer Lösung dargeboten wurde neben einer geringen, genau abgewogenen Menge Asparagin. Bei dem ersten Versuch ergab sich eine geringe Zunahme an Stickstoff; bei dem zweiten, bei dem, um doppelte Rechnung zu vermeiden, nicht Pilzmasse und Flüssigkeit getrennt, sondern in einem verarbeitet wurden, fiel die N-Zunahme weg. (Die Versuche werden demnächst in der Wochenschr. f. Brauerei veröffentlicht werden.) Die namentlich durch die Versuche mit Kahlbaumscher Maltose augenscheinlich bestätigte Fähigkeit der Hefen, den Luftstickstoff zu assimilieren, muß nunmehr wieder in Frage gestellt werden. Trotzdem sind diese Versuche mit jener Maltose nicht ganz ohne

Wert, sie zeigen uns das unterschiedliche Assimilationsvermögen der Pilze gegen jene unbekannte N-Substanz, die man mit dem Wildierschen Bios in eine Reihe stellen kann. (Nach Wildier löst sich Bios in 80 $^0/_0$ igem Alkohol, während nach Kluyver letzterer die Maltoseverunreinigung ausfällt.) Der naheliegende Versuch, die mit Alkohol ausgefällte Substanz mit reiner Glucose und Maltose zu kombinieren, ist von Kluyver nicht gemacht worden. Er hätte uns gezeigt, ob auch hier die Zucker gleichwertig sind.

Kluyver findet, daß Glucose und Maltose mit Hefenwasser gleichwertige Pilzernten geben; für die Kombination Harnstoff + Glucose bzw. Maltose habe ich dasselbe bestätigt. Ob es N-Verbindungen gibt, mit denen die Maltose besseres Pilzwachstum liefert als die Glucose, steht noch dahin. Die Kluyverschen Erntegewichte zeigen uns vorläufig die große Verschiedenheit der Aufnahmefähigkeit der verschiedenen Pilze für die Kombination N-Substanz und Maltose. Für die 50 ccm Maltoselösung, die Kluyver anwendet, berechnet sich die Menge der N-haltigen Verunreinigung auf 5,5 mg; die Ernten (Trockensubstanz) gehen aber auf 20 bis 72 mg.

Mineralstoffe kommen dabei kaum sehr in Betracht, ebensowenig das Asparagin, da ja dieses mit reinem Zucker kein Wachstum lieferte, also nicht assimiliert wird.

Ob diese 5,5 mg N-Substanz die Pilze befähigt haben, die Maltose, von welcher der Rest 14,5 bis 66,5 mg stammt, zu hydrolysieren und zu Glucose erst umzuwandeln, erscheint mir fraglich.

Wahrscheinlicher ist die direkte Assimilation der Maltose.

Neuere Assimilationsversuche, die demnächst unter dem Titel „Das Wachstum einiger Hefen und Pilze in gleichprozentigen Alkohol- und Zuckerlösungen“ in der Wochenschr. f. Brauerei zur Veröffentlichung kommen, sprechen ebenfalls gegen die Allgemeingültigkeit der Abderhaldenschen Regel. Sachsia suaveolens, die sowohl Rohrzucker wie Glucose und Fructose vergärt, gab mit Rohrzucker eine doppelt so große Ernte an Trockensubstanz als wie die Glucose und Fructose für sich in gleichprozentigen Lösungen. Hätte der Pilz erst allen Rohrzucker invertiert, bevor er ihn zur Assimilation be-

nutzt, dann wäre zu erwarten gewesen, daß auch die Ernte nicht über die mit den Komponenten des Rohrzuckers erhaltene hinausging.

Zum Schluß sei noch auf die Schwierigkeit aufmerksam gemacht, die mit dem Bezug reiner Zucker u. dgl. verknüpft ist. Die chemischen Fabriken sollten bei der Herstellung größerer Posten einer bestimmten Substanz auch eine möglichst genaue Analyse davon anfertigen, das einzelne Laboratorium kann unmöglich sich diesen Mühen und Ausgaben unterziehen.

Zur Kenntnis des Magenschleims.

Von

J. López-Suárez (Madrid).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 20. August 1913).

I.

Das Sekret des Oberflächenepithels des Magens, der „Magenschleim", tritt in seiner physiologischen Wichtigkeit stark gegen das Sekret der Magendrüsen, den „Magensaft", zurück. Dies dürfte es erklären, daß er anscheinend noch nicht zum Gegenstand einer eingehenden chemischen Untersuchung gemacht worden ist.

In der Pathologie des Magens dürfte aber dem Magenschleim eine wichtigere Rolle zufallen. Sein reichliches Auftreten bei chronischen Katarrhen gilt für ein wichtiges Symptom. Seine diagnostische Bedeutung wird aber durch den Umstand sehr geschmälert, daß die bisherigen Methoden zum Nachweis der Schleimvermehrung auf recht oberflächliche Schätzungen hinauslaufen. Dies erklärt sich leicht daraus, daß man bisher fast nur die eigentümlich schleimige Konsistenz des Magenschleims für den Nachweis verwenden konnte, während doch daneben Stoffe ähnlicher kolloider Beschaffenheit sehr oft im Mageninhalt vorkommen, so schleimige Speisen und Verdauungsprodukte, das Mucin des Speichels, verschluckte Sputa, Epithelien und Leukocyten mit ihren Kernen und wohl noch anderes.

Danach dürfte eine bessere chemische Charakterisierung des eigentlichen Magenschleims einen gewissen Wert haben, zumal wenn sie eine diagnostische Verwertung zulassen würde.

Für die vorliegende Untersuchung, die ich unter Leitung von Herrn Prof. Hofmeister ausführte, wurde der Schleim

von Schweinemägen gewählt, da man davon nach meinen gelegentlichen Erfahrungen erhebliche Mengen im Magen geschlachteter Tiere findet. Daneben kam in Betracht, daß die Magenverdauung des Schweines der des Menschen in physiologischer Richtung näher steht als jene anderer zugänglicher Säugetiere und daher einigermaßen zu Rückschlüssen auf beim Menschen gegebene Verhältnisse berechtigt.

Der Magen von Schweinen, die in nüchternem Zustand geschlachtet werden, ist von einer dicken, von Speiseresten ziemlich freien Schleimschicht bedeckt, die sich leicht von der Mucosa ablösen läßt. Die Mägen wurden längs der kleinen Kurvatur geöffnet und zunächst unter Schonung der Schleimschicht mit dem Wasserstrahl abgespült. Dann wurde der Schleim von der Mucosa abgehoben und gesammelt. Zur Reinigung wurde er in ganz verdünnter Lauge gelöst, die trübe Flüssigkeit koliert, mit Essigsäure ausgefällt, der Niederschlag neuerdings in Lauge gelöst und mit Säure gefällt und diese Prozedur nochmals wiederholt. Die Abtrennung der Niederschläge geschah stets durch scharfes Abzentrifugieren.

Das so erhaltene Präparat von Magenschleim gab, in der Schüttelmaschine mit kaltem Alkohol und Äther behandelt, an diese erhebliche Mengen Fettsäuren, Fett und Lipoide[1]) ab. Es enthielt auch nach vollständiger Extraktion immer noch Phosphor bzw. Nucleinstoffe. Doch gelang es trotz verschiedener Versuche weder auf chemischem noch auf mechanischem Wege, die phosphorhaltige Substanz abzutrennen.

Getrocknet war dieses Schleimpräparat ein grauweißes Pulver, vollkommen löslich in Alkali, unlöslich in verdünnten Mineralsäuren. Es wurde von Pepsin-Salzsäure in 24 Stunden fast gar nicht angegriffen.

Die Analyse ergab die Zusammensetzung: C = 49,63 %, H = 7,20 %, N = 13,48 %, S = 1,75 %, P = 0,77 %, Asche 0,75 %.

Schon diese Zahlen lehren, daß der Magenschleim nicht nach dem Typus eines echten Mucins zusammengesetzt ist. In der Tat lieferte zwar die Säurehydrolyse eine stark reduzierende Flüssigkeit, daneben aber auch viel abgespaltene

---

[1]) Unter den „Lipoiden“ findet sich ein wachsartiger, in Alkohol löslicher, in Äther, Chloroform und Benzol unlöslicher Körper, der Phosphor und Stickstoff enthält und in Sphäriten krystallisiert.

Schwefelsäure und geringe Mengen Purinbasen. Danach mußte an die Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure und Nucleinsäure gedacht werden.

II.

Chondroitinschwefelsäure — bzw. eine Säure, die ein stickstoffhaltiges Kohlenhydrat, gepaart mit Schwefelsäure enthält — ist bereits mehrfach in früher als Mucin oder Mucoid bezeichneten Kolloiden mit größerer oder geringerer Sicherheit nachgewiesen. Levene[1]) hat Verbindungen vom Charakter der Chondroitinschwefelsäure im Sehnenmucin, Submaxillarismucin, in der Mucoidsubstanz eines Carcinoms, van Lier[2]) im Mucin des Nabelstranges, im Sehnen- und Coriomucoid gefunden. Daß Chondroitinschwefelsäure aus der Schleimhaut des Schweinemagens in Spuren darstellbar ist, hat bereits Krawkow[3]) nachgewiesen, ohne dieses Vorkommen aber mit dem Magenschleim in Beziehung zu bringen.

Ich habe die gepaarte Schwefelsäure des Magenschleims im Anschluß an Kondos[4]) Darstellung der Chondroitinschwefelsäure in folgender Weise zu isolieren versucht.

Etwa 1 kg des frischen, von groben Beimengungen befreiten Schleims wird mit 2 Volumen 2%iger Kalilauge 48 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen, die Flüssigkeit nach dem Kolieren mit Essigsäure angesäuert und der entstandene reichliche Niederschlag abzentrifugiert. Der Niederschlag wird nochmals derselben Behandlung unterworfen. Die gesamten nach Ansäuern und Zentrifugieren erhaltenen Flüssigkeiten werden mit überschüssigem Bariumcarbonat anhaltend im kochenden Wasserbad digeriert, bis die überstehende Flüssigkeit kaum eine Biuretreaktion zeigt. Nach dem Erkalten wird abzentrifugiert, die klare, kaum gefärbte Flüssigkeit zum Sirup eingeengt und dieser in einen mit Eisessig gefüllten Zylinder eintropfen lassen. Der dabei entstehende Niederschlag wird abgesaugt und durch nochmaliges Umfällen mit Eisessig, dann durch Waschen mit Alkohol und Äther gereinigt.

Das so als trockenes Pulver erhaltene Rohprodukt zeigte alle Reaktionen der Chondroitinschwefelsäure. Die wässerige Lösung fällte Leimlösung, zeigte starke Reaktion nach Molisch

[1]) Levene und Jacobs, Journ. f. experim. Medizin 10, 557. — Levene, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 395, 1900.

[2]) van Lier, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 177, 1909.

[3]) Krawkow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 40, 200, 1897.

[4]) Kura Kondo, diese Zeitschr. 26, 116, 1910.

und lieferte bei Hydrolyse mit Mineralsäure eine reduzierende Substanz, Schwefelsäure und Furfurol.

Zur Reinigung wurde das Rohpräparat, das noch viel Phosphor enthielt, wiederholt in möglichst wenig Wasser aufgenommen und stark abzentrifugiert, wobei eine kleine Menge einer gefärbten phosphorreichen Substanz zurückblieb. Schließlich gelang es so, den Phosphorgehalt so weit herunterzudrücken, daß nach Veraschen mit Salpetermischung Molybdatlösung wohl noch eine Gelbfärbung, aber keinen Niederschlag mehr gab.

Von 15 Schweinemägen wurden 5 g des rohen und etwa 3,5 g des in obiger Weise gereinigten Produkts erhalten.

Die Analyse ergab:

0,1278 g Substanz gaben 0,2029 g CO_2 und 0,0625 g H_2O
0,1204 g " " 6,0 ccm N (bei 20°, 715 mm)
6,172 mg " " 1,928 mg $BaSO_4$ (Mikroanalyse n. Pregl).

Hieraus folgt die Zusammensetzung:

C = 43,29%
H = 5,47%
N = 5,37%
S = 4,29%.

Vergleicht man diese Zahlen mit den von Mörner, Schmiedeberg, Kondo, Levene usw. für Chondroitinschwefelsäure gefundenen Werten, so ergeben sich sehr erhebliche Unterschiede.

Es berechnet sich für die Chondroitinschwefelsäure des Knorpels das Verhältnis C:N:S:

nach Schmiedeberg zu 18:1:1
" Kondo . . . " 15:1:1
" Levene[1] . . " 14:1:1,

während sich aus meinen Zahlen etwa die Proportion 27:3:1 ergibt.

Da die Chondroitinschwefelsäure durch ihre kolloide Beschaffenheit der Reindarstellung große Schwierigkeiten bereitet und überdies sehr leicht einen Teil ihres Schwefels einbüßt — Schmiedeberg analysierte Präparate, in denen die Proportion C:S bloß 24 : 1 und sogar 30 : 1 betrug —, möchte ich es

[1]) Levene und La Forge, Journ. of Biolog. Chem. 15, 69 und 155, 1913.

zunächst unentschieden lassen, ob die erhaltene gepaarte Schwefelsäure eine eigene Säure darstellt, die bloß der Chondroitinschwefelsäure nahesteht, oder ob es sich nur um die zum Teil ihres Schwefels beraubte, aber noch mit stickstoffreichen Beimengungen verunreinigte typische Chondroitinschwefelsäure selbst handelt.

Entscheidend für die Anwesenheit der Chondroitinschwefelsäure wäre der Nachweis von Chondroitin oder von Chondrosin. Bei der geringen Ausbeute an Chondrosin, mit der man nach Schmiedebergs Verfahren bei Darstellung aus reiner Chondroitinschwefelsäure zu rechnen hat, war auf einen Nachweis auf diesem Wege kaum zu rechnen. Ich konnte aber von einem inzwischen im hiesigen Laboratorium von Hebting ausgearbeiteten Verfahren Gebrauch machen, das den Nachweis des Chondrosins in Form einer gut erhältlichen, schön krystallisierenden salzsauren Verbindung gestattet[1]).

Indem ich 2,5 g meines Präparates der Hydrolyse und Veresterung unter den von Hebting ermittelten Bedingungen unterwarf, erhielt ich in kleiner Menge ein in Sphäriten krystallisierendes und reduzierendes, in absolutem Alkohol lösliches, durch Äther daraus fällbares Hydrochlorat, das nach Darstellung und Eigenschaften der von Hebting dargestellten Verbindung entsprach. Die Ausbeute war begreiflicherweise gering. Dabei zeigte sich, daß das zerlegte Präparat nach der Hydrolyse trotz des geringen, nicht quantitativ bestimmbaren Phosphorgehalts noch kleine Mengen von aus ammoniakalischer Lösung mit Silber fällbaren Stoffen — vermutlich Purinbasen — enthielt. Wenn ich danach an der Anwesenheit einer Chondrosin liefernden Verbindung im Magenschleim nicht zweifeln kann, muß ich die Entscheidung darüber, wie nahe sie der typischen Chondroitinschwefelsäure steht, einer weiteren Untersuchung vorbehalten. Die Entscheidung wird nach den jetzt gegebenen Vorarbeiten unschwer zu treffen sein.

III.

Wie aus der oben mitgeteilten Analyse des Rohpräparates des Magenschleims hervorgeht, enthält es erhebliche Mengen

---

[1]) Herr Dr. Hebting wird demnächst über seine Erfahrungen berichten. Ich bin ihm für die Erlaubnis, davon Gebrauch zu machen, zu bestem Danke verpflichtet.

einer in Wasser, Alkohol und Äther unlöslichen phosphorhaltigen Verbindung. Es liegt auf der Hand, daß es sich dabei um Nucleinsäure-Eiweißverbindungen handeln dürfte, zumal im Magenschleim die Anwesenheit von zahlreichen Kernen der Epithelien und Leukocyten nachweisbar ist. Zur Sicherstellung dieser Vermutung habe ich im Magenschleim den Nachweis der Purinbasen zu führen gesucht.

Etwa 500 g frischen Schleims wurden 6 Stunden mit 4%iger Salzsäure gekocht, die sehr dunkle Flüssigkeit nach Abkühlung mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, der Niederschlag, der die Purinbasen enthalten mußte, mit Ammoniak gelöst und die Flüssigkeit mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Der ausgewaschene Silberniederschlag wurde dann nach Krüger und Salomon[1]) weiter untersucht.

Es wurden dabei erhalten: 1. ein in dunkelgelben, schön ausgebildeten Krystallen sich ausscheidendes Pikrat, das sich bei 240° dunkler färbte, bei 280° zersetzte und 28,61% N enthielt (Adeninpikrat $C_5H_5O_5 . C_6H_3N_3O_7 + H_2O$ verlangt 29,31%); 2. ein in kleinen goldgelben Nadeln krystallisierendes Pikrat, das sich bei 200° dunkler färbte, bei 205° zersetzte, mit 29,12% N (Guaninpikrat verlangt 29,48%); 3. ein aus Salpetersäure krystallisierendes Nitrat vom Verhalten des Hypoxanthinnitrats in kleinster Menge.

Danach enthält der Magenschleim erhebliche Mengen von Nucleinverbindungen, und es ist begreiflich, daß Nucleinsäure und ihre Spaltungsprodukte sich bei der Isolierung der chondroitinschwefelsäureähnlichen Verbindung störend geltend machen.

IV.

Vergleicht man den Schwefelgehalt des analysierten Schleimpräparats mit jenem der daraus dargestellten gepaarten Schwefelsäure, so ergibt sich, daß letztere in dem Rohpräparat mit einer großen Menge eines schwefelärmeren Stoffes — vermutlich Eiweiß — verbunden sein dürfte.

Zur Prüfung dieser Vermutung wurde der Niederschlag, der nach Extraktion des Schleims mit 2%iger Kalilösung und Essigsäurefällung erhalten worden war, neuerdings mit Alkali behandelt, wieder mit Säure gefällt und diese Prozedur wiederholt, bis eine hydrolysierte Probe weder Abspaltung von Schwefelsäure noch von Purinbasen mehr ergab und kaum noch Fehlingsche Lösung reduzierte.

---

[1]) Krüger und Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 350, 1898.

Der so erhaltene Körper wurde dann durch Umfällen aus alkalischer Lösung mit Säure, endlich durch Extraktion mit Alkohol und Äther weiter gereinigt. Er bildete dann in trockenem Zustand ein weißes Pulver, das sich in Alkali leicht löste, in verdünnten Säuren unlöslich war und die allgemeinen Eigenschaften eines Eiweißkörpers darbot. Er gab Biuret-, Millonsche, Xanthoprotein-, Molischs und Hopkins' Reaktion und verbrannte mit typischem Geruch. Nur die Schwefelbleiprobe blieb, wie nach der Behandlung mit Alkali zu erwarten war, negativ.

Die Analyse ergab nachstehende Werte, denen ich zum Vergleich jene des Rohpräparats des Schleims und der chondroitinschwefelsäureähnlichen Verbindung zur Seite stelle.

	Rückstand nach Alkaliextraktion %	Rohpräparat %	Säure vom Typus der Chondroitinschwefelsäure %
C . . .	53,86	29,63	43,29
H . . .	7,29	7,20	5,47
N . . .	16,30	13,48	5,37
S . . .	1,47	1,75	4,29
P . . .	0,45	0,77	—

Die Zusammensetzung ist die eines sauerstoffarmen Eiweißkörpers und ist von der eines echten Mucins weit entfernt.

Man kann es zunächst unentschieden lassen, ob der immer noch erhebliche Phosphorgehalt und wenigstens ein Teil des Schwefelgehalts auf nicht entfernbare Reste der Nucleinsäuren bzw. der gepaarten Schwefelsäure zu beziehen sind. Der Vergleich mit den nebenstehenden Analysen zeigt, daß dieser Eiweißkörper den Hauptbestandteil des Magenschleims ausmacht, in dem er vorwiegend mit der chondroitinschwefelsäureähnlichen Substanz, vermutlich zum Teil auch mit Nucleinsäure verbunden ist. Man kann danach den Magenschleim als ein Gemenge von Proteinstoffen ansehen, in denen vorwiegend ein Chondroproteid neben Nucleoproteiden vertreten ist. Für die Anwesenheit echten Mucins, wenn sie auch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, haben sich keine Anhaltspunkte ergeben.

Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus.

II. Untersuchung der Organe auf ihren Gehalt an Phosphor und intracellularen Fermenten[1]).

Von

M. Masslow.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin und der Klinik für Kinderkrankheiten an der Kaiserlichen medizinischen Militär-Akademie in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 24. August 1913.)

Auf Grund theoretischer Erwägungen können die Untersuchungen über den Phosphorgehalt der Organe für besonders wichtig gelten. Alle anderen, Entwicklung und Stoffwechsel[2]) betreffenden Untersuchungen konnte ich jetzt, da mir die Daten der analytischen Untersuchung der Organe zur Verfügung standen, mit größerer Sicherheit beurteilen. Die Frage besteht jetzt darin, inwieweit die bei der Untersuchung der tierischen Organe gefundenen Werte untereinander verglichen werden können. Es unterliegt keinem Zweifel, daß zwischen den einzelnen Individuen keine völlige Übereinstimmung in dem Gehalt an einzelnen Bestandteilen bestehen kann. Je größer der Unterschied in Alter und Gewicht, desto deutlicher sind die Schwankungen der Organbestandteile. Sogar bei zwei Individuen von gleichem Alter und Gewicht, aber verschiedenem Wurf können die Schwankungen bedeutend sein. Aber alle die Schwankungen werden auf ein Minimum reduziert, wenn man Tiere von einem Wurf nimmt und dann die Zahlen untereinander vergleicht, nicht aber

---

[1]) I. Mitteil. diese Zeitschr. 55, 45, 1913.

[2]) Die Details hinsichtlich der Methodik, ebenso wie die den Stoffwechsel betreffenden Daten sind in meiner früheren Arbeit „Über den Einfluß des Phosphors auf die Entwicklung der Tiere und auf den Phosphor- und Stickstoffumsatz" sowie in meiner Dissertation zu finden.

bei Tieren aus verschiedenen Familien. Sind die Tiere in gleichem Alter und von gleichem Wurf, sind Lebensbedingungen und Ernährung die gleichen, so haben wir ohne Zweifel das Recht, von einem Individuum auch auf die anderen zu schließen. Die etwaigen Schwankungen sind so unbedeutend, daß sie bei der Beurteilung des Gesamtbildes keine Rolle spielen können.

Eines der Tiere tötete ich vor Beginn der Versuche und kann nun, fußend auf der Analyse seiner Organe, beurteilen, mit welchem Phosphorgehalt die Hunde in den Versuch traten. Das zweite, zur Kontrolle dienende Tier, das normale gemischte Nahrung erhielt, tötete ich am Schlusse des Versuchs. Das berechtigt mich unbedingt zu Schlußfolgerungen über die Änderung des Phosphorgehalts während der Versuchszeit unter normalen Bedingungen. Vergleicht man die auf den Phosphorgehalt bei den Versuchshunden bezüglichen Tabellen mit denjenigen bei den genannten zwei Hunden, so ermöglicht uns das mehr oder weniger zuverlässige Schlußfolgerungen.

Während der Periode des Übergangs von Milchnahrung auf gemischte Kost enthält der Organismus des Tieres eine bestimmte Menge P; die absolute Phosphormenge hängt vom Gewicht des Tieres und der Größe der Organe ab, der Prozentgehalt dagegen ist sogar bei verschiedenen Familien ungefähr der gleiche. Der Phosphor ist in den Organen in Form von anorganischem und organischem Phosphor verteilt; letzterer besteht aus Lipoid- und Nucleinphosphor. Bei normaler Entwicklung des Tieres, wenn dieses Haferschleim und Fleisch erhält, nimmt die Phosphormenge im Organismus bedeutend zu; da indessen diese Zunahme Hand in Hand mit dem Wachstum der Gewebe geht, so wird keine Vermehrung des Prozentgehaltes beobachtet. Aller Phosphor der Nahrung wird für den Stoffwechsel und den Aufbau neuer Gewebe verbraucht. In dieser Beziehung erfolgt in der Wachstumsperiode sogar bei bedeutendem Phosphorgehalt der Nahrung keine wirkliche Anhäufung von Phosphor im Organismus in Form von überschüssigen Mengen. Diese Vermehrung des Gesamtphosphors wird durch Vermehrung aller Phosphorarten bedingt: sowohl des organischen, wie anorganischen, wie der Phosphatide. Bei ungenügender Phosphorzufuhr in der Nahrung bleibt der Organismus, wie wir sahen, in seiner Entwicklung zurück, das

Tabelle

Gehalt an Gesamtphosphor in

Organe	II.										
	Hund 6: Kontrolltier			Hund 5: Albumin + Glyceroph.				Hund 4: Albumin			
	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	+ − %	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	+ − %
Gehirn	9,2	131,4	1,43	9,6	133,9	1,39	+ 1	11,3	165,5	1,46	+ 25
Leber	14,8	178,5	1,21	11,0	124,2	1,13	− 31	10,7	130,2	1,21	− 25
Niere	3,2	36,8	1,15	3,0	31,2	1,04	− 16	2,9	31,4	1,08	− 15
Lunge	3,0	33,5	1,12	3,3	33,9	1,02	+ 1	3,7	33,6	0,91	—
Herz	2,4	23,9	0,99	2,3	22,4	0,97	− 7	2,2	23,9	1,08	—
Pankreas	1,4	18,6	1,33	0,7	17,3	2,47	− 7	0,8	15,8	1,97	− 15
Milz	0,75	5,8	0,78	0,3	2,6	0,86	− 50	0,5	6,4	1,27	+ 10
Thymus	0,9	80,7	8,97	0,2	Spur	—	—	0,3	Spur	—	—
Darm	23,1	291,7	1,26	22,2	226,2	1,02	− 14	18,5	212,6	1,15	− 28
Muskel	1,0	—	0,81	1,0	—	0,75	—	1,0	—	—	—
Knochenmark	1,0	—	7,52	1,0	—	6,21	—	1,0	—	—	—

Organe	III. Familie										
	Hund 7: Kontrolltier			Hund 8: Kontrolltier				Hund 9: Brei + Glycerophosph.			
	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	+ − %	Gewicht d. Organs g	Absolute P-Menge mg	P-Gehalt %	+ − %
Gehirn	7,6	113,3	1,48	10,0	—	—	—	8,5	118,6	1,39	+ 4
Leber	10,0	121,7	1,21	24,8	338,7	1,37	+ 195	7,4	108,6	1,15	− 11
Niere	1,6	19,2	1,20	4,4	51,6	1,17	+ 168	1,4	15,2	1,08	− 22
Lunge	1,5	17,2	1,14	2,6	28,2	1,08	+ 64	2,2	25,8	1,11	+ 50
Herz	1,1	11,9	1,08	2,8	26,1	0,93	+ 119	1,7	16,9	0,99	+ 41
Pankreas	0,8	14,1	1,76	2,2	34,5	1,54	+ 144	0,7	12,4	1,79	− 12
Milz	0,4	5,2	1,30	1,2	16,5	1,37	+ 217	0,5	5,4	1,08	—
Thymus	—	—	—	0,2	—	—	—	0,2	—	—	—
Darm	17,0	148,1	0,87	36,0	—	—	—	14,4	153,3	1,06	+ 2
Muskel	1,0	—	1,93	1,0	—	—	—	1,0	—	0,68	—
Knochenmark	1,0	—	7,66	1,0	—	6,13	—	1,0	—	6,72	—

Anmerkung: Das Gewicht der Trockensubstanz des Organs ist in Gramm Verhältnis zur Trockensubstanz berechnet; die 4. Spalte bezeichnet (in Prozenten) bei dem vor dem Versuch getöteten Hunde (Nr. 6 u. 7).

I.

den Organen in mg und in %.

Familie											
Hund 3: Kuhmilch				Hund 2: Lecithin				Hund 1: Phosphorarmer Brei			
Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	+ −	Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	+ −	Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	+ −
g	mg	%	%	g	mg	%	%	g	mg	%	%
12,5	168,7	1,35	+ 27	13,3	203,1	1,52	+ 54	10,5	167,4	1,59	+ 27
14,7	146,4	0,99	− 18	19,0	289,2	1,52	+ 62	9,6	112,0	1,24	− 34
2,9	33,4	1,15	− 10	3,2	48,7	1,52	+ 32	2,2	24,8	1,12	− 33
5,1	49,7	0,97	+ 48	4,4	49,7	1,13	+ 48	3,5	31,5	0,90	− 7
2,7	25,2	0,93	+ 5	2,8	24,2	0,86	+ 1	2,7	28,7	1,06	+ 20
1,1	19,9	1,81	+ 12	1,2	23,6	1,80	+ 26	0,8	15,7	1,96	− 15
0,7	7,9	1,13	+ 36	0,6	7,5	1,25	+ 29	0,5	6,4	1,28	+ 10
0,3	Spur	—	—	—	—	—	—	0,3	Spur	—	—
20,0	163,8	0,81	− 44	31,5	313,8	0,99	+ 11	14,0	145,7	1,04	− 50
1,0	—	0,68	—	1,0	—	0,75	—	1,0	—	0,75	− 11
1,0	—	—	—	1,0	—	6,64	—	1,0	—	5,69	− 26

				I. Familie								
Hund 10: Brei + Phosphor				Hund 11: Phosphorarm			Hund 12: Phosphorarm			Hund 13: Kontrolltier		
Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	+ −	Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt	Gewicht d. Organs	Absolute P-Menge	P-Gehalt
g	mg	%	%	g	mg	%	g	mg	%	g	mg	%
7,9	117,2	1,48	+ 3	15,0	209,2	1,39	13,0	142,5	1,09	60,0	846,0	1,41
10,2	101,6	0,99	− 17	17,4	208,1	1,19	12,4	150,1	1,22	66,7	546,4	0,82
1,8	19,5	1,08	+ 2	2,2	26,5	1,20	2,4	23,2	0,97	11,1	113,0	1,02
1,9	19,3	1,01	+ 12	4,7	44,2	0,94	3,5	41,8	1,19	12,5	123,1	0,98
1,8	16,7	0,92	+ 40	4,0	35,4	0,88	3,5	33,9	0,96	10,4	80,6	0,77
0,9	15,1	1,68	+ 6	1,8	32,8	1,82	1,7	4,3	2,02	7,4	96,4	1,30
0,4	4,2	1,04	− 20	0,5	5,53	1,11	0,4	4,4	2,10	2,4	—	—
0,15	—	—	—	0,2	Spur	—	0,1	Spur	—	5,6	110,9	1,98
14,2	151,3	1,03	+ 2	16,5	171,6	1,01	16,8	193,3	1,15	77,0	626,0	0,81
1,0	—	0,75	—	1,0	—	0,72	1,0	—	0,70	1,0	—	0,79
1,0	—	6,64	—	1,0	—	4,97	1,0	—	4,82	1,0	—	5,37

angegeben, die absolute P-Menge in Milligramm; der Prozentgehalt des P ist im die Verminderung oder Vermehrung im Vergleich zu der absoluten Phosphormenge

Gewicht hört auf zu steigen und sinkt späterhin. Parallel damit geht die Zerstörung eines Teiles der Organzellen, vielleicht um dadurch den nötigen Phosphor zu beschaffen. Die Benutzung eines Teiles des in den Organen enthaltenen Phosphors, ohne die Organe dabei zu schädigen, gelingt dem Organismus nur in beschränktem Maße; in jedem Falle reicht dieser Phosphor nicht auf lange, und dann tritt unvermeidlich Gewebszerfall ein — der Organismus lebt auf Kosten seines eigenen Phosphors. Als Resultat von alledem erfolgt eine Verarmung des Organismus an Phosphor.

Zu allererst opfert der Organismus den anorganischen Phosphor. Da hierbei sogar eine Verminderung im Prozentgehalt des anorganischen Phosphors beobachtet wird, so muß man annehmen, daß die Zellen den Phosphor in dieser Form noch während des Lebens abgeben können, ohne darunter zu leiden, aber natürlich nur bis zu einer gewissen Grenze. Die organische Form des Phosphors bleibt umgekehrt sogar bei Phosphorhunger ziemlich beständig! Im speziellen muß bemerkt werden, daß der Organismus die Lipoidverbindungen des Phosphors, als die am meisten beweglichen, in gewissen Grenzen opfern kann, die Nucleinverbindungen dagegen sind stabiler. Gehirn und Herz verarmen in der Regel unter keiner Bedingung an Phosphor, es erfolgt sogar Anreicherung; für den Bedarf dieser für den Organismus wichtigsten Organe werden auch die spärlichen Phosphormengen der Nahrung und die Zerfallsprodukte der Gewebe verwendet. Eine ausgesprochene Phosphorverarmung erfolgt in Leber, Därmen, Muskeln, Knochenmark, Nieren. Wenn der Phosphorgehalt sein Minimum erreicht, geht das Tier zugrunde.

Zusatz von anorganischen Salzen der Phosphorsäure bringt dem Organismus keinerlei Nutzen. Den organischen Phosphor der Nahrung können sie nicht ersetzen, und so lebt der Organismus während der ganzen Versuchszeit auf Kosten des eigenen Phosphors. Eine Tatsache muß dabei besonders betont werden, nämlich, daß der Organismus bedeutend ärmer wird an organischem Phosphor, aber fast gar keinen anorganischen Phosphor verliert. Augenscheinlich wird der Bedarf an organischem Phosphor durch die Phosphate gedeckt; diese genügen aber nicht für die Entwicklung der Organe und Gewebe.

Tabelle II.
Verteilung des anorganischen Phosphors.

Organe	II. Familie																	
	Hund 6			Hund 5			Hund 4			Hund 3			Hund 2			Hund 1		
	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %
Gehirn . .	53,2	0,58	—	56,6	0,59	+ 6	58,4	0,52	+ 9	46,2	0,37	− 14	71,9	0,54	+ 35	51,6	0,49	− 4
Leber . .	98,3	0,66	—	31,5	0,29	− 68	37,2	0,34	− 63	52,4	0,36	− 53	98,2	0,51	—	37,8	0,39	− 62
Niere . .	14,9	0,47	—	10,3	0,34	− 31	17,1	0,59	+ 14	9,9	0,34	− 34	17,3	0,54	+ 16	8,6	0,39	− 42
Herz . . .	10,1	0,42	—	7,9	0,34	− 21	12,2	0,55	+ 20	10,6	0,39	− 5	14,4	0,52	+ 42	9,2	0,34	− 9
Lunge . .	14,0	0,47	—	—	—	—	28,2	0,76	+ 101	11,9	0,23	− 16	15,6	0,35	+ 11	12,1	0,34	− 14

Organe	III. Familie												I. Familie					
	Hund 7			Hund 8			Hund 9			Hund 10			Hund 11		Hund 12		Hund 13	
	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %
Gehirn . .	44,8	0,59	—	—	—	—	36,6	0,43	− 19	43,4	0,55	− 4	56,4	0,37	60,4	0,46	225,0	0,38
Leber . .	45,5	0,45	—	118,9	0,48	+ 161	32,4	0,34	− 29	40,1	0,39	− 12	75,2	0,43	56,2	0,45	287,1	0,43
Niere . .	8,6	0,54	—	18,4	0,42	+ 114	5,9	0,41	− 32	9,7	0,54	+ 12	8,5	0,38	7,3	0,30	45,5	0,41
Herz . . .	4,8	0,44	—	11,7	0,42	+ 143	6,7	0,39	+ 39	9,7	0,54	+ 102	15,1	0,38	13,6	0,39	—	—
Lunge . .	6,6	0,44	—	9,6	0,36	+ 45	—	—	—	13,5	0,71	+ 104	13,0	0,28	10,3	0,29	47,0	0,38

Anmerkung: Spalte 3 zeigt, um wieviel Prozent der Phosphorgehalt in den Organen im Vergleich zu dem ursprünglichen Wert zunahm oder abnahm (Hund 6 und 7).

Tabelle III.

Gehalt an organischem Phosphor.

Organe	II. Familie																	
	Hund 6			Hund 5			Hund 4			Hund 3			Hund 2			Hund 1		
	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %
Gehirn . .	78,2	0,85	—	77,3	0,80	—	106,7	0,94	+ 36	122,5	0,98	+ 56	131,2	0,98	+ 67	115,8	1,10	+ 48
Leber . .	80,2	0,55	—	92,7	0,84	+ 15	93,0	0,87	+ 15	94,0	0,63	+ 17	191,0	1,01	+ 138	81,2	0,85	+ 1
Niere . .	21,9	0,68	—	20,9	0,70	− 5	14,3	0,49	− 35	23,5	0,81	+ 7	31,4	0,98	+ 43	16,2	0,73	− 27
Herz . . .	13,8	0,57	—	14,5	0,63	+ 4	11,7	0,53	− 16	14,6	0,54	+ 5	9,8	0,34	− 29	19,5	0,72	+ 41
Lunge . .	19,5	0,65	—	—	—	—	5,4	0,25	− 73	37,8	0,75	+ 93	34,1	0,78	+ 74	19,4	0,56	—

Organe	III. Familie												I. Familie					
	Hund 7			Hund 8			Hund 9			Hund 10			Hund 11		Hund 12		Hund 13	
	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	+ − %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absoluter P-Gehalt mg	P-Gehalt %
Gehirn . .	68,5	0,89	—	—	—	—	82,0	0,96	+ 19	73,8	0,93	+ 8	152,8	1,02	82,1	0,63	621,9	1,03
Leber . .	76,2	0,76	—	219,2	0,89	+ 188	76,2	0,81	—	61,5	0,60	− 20	132,9	0,76	94,7	0,77	259,3	0,39
Niere . .	10,6	0,66	—	33,2	0,75	+ 212	9,3	0,67	− 12	9,8	0,54	− 8	18,0	0,82	15,9	0,67	67,5	0,61
Herz . . .	7,1	0,64	—	14,4	0,51	+ 102	10,2	0,60	+ 43	7,0	0,38	—	20,3	0,56	20,3	0,57	—	—
Lunge . .	10,6	0,70	—	18,6	0,72	+ 75	—	—	—	5,8	0,30	− 46	31,5	0,66	31,5	0,90	76,1	0,60

Die für den Organismus notwendigen organischen Verbindungen gewinnt der Organismus auch in diesem Falle aus den Zerfallsprodukten der Gewebe. Augenscheinlich ist der Phosphor der anorganischen Phosphorsalze für die Synthese komplizierter organischer Verbindungen und von Phosphatiden nicht verwendbar.

Bei Zusatz von Glycerophosphaten zur Nahrung tritt schließlich auch Verarmung des Organismus an Phosphor ein. Diese Verarmung wird vor allem durch eine Abnahme des organischen und des Phosphors der Phosphatide bedingt; die organischen Verbindungen nehmen an Quantität nicht ab, zeigen aber auch keine Neigung zur Zunahme, wie dies bei normaler Entwicklung der Fall sein müßte. Auf diese Weise erscheint unzweifelhaft, daß auch die Glycerophosphate allein den Phosphorbedarf des Organismus nicht decken können. Eine Synthese der organischen Verbindungen erfolgt dabei nicht und die Glycerophosphate werden, was die Phosphorassimilation anbetrifft, ohne Nutzen für den Organismus ausgeschieden. Der Phosphorverlust des Organismus erfolgt in der gleichen Richtung wie bei dem Hündchen, das phosphorarme Nahrung erhielt, nur etwas rascher.

Im Gegensatz dazu übt das Lecithin unzweifelhaft einen günstigen Einfluß auf den Organismus im Sinne einer Vermehrung des Phosphorgehaltes der Organe aus. Bei Fütterung des Hundes mit Lecithin nimmt sowohl der Gehalt an anorganischem wie besonders organischem Phosphor und speziell an P der Phosphatide zu. Dabei erfolgt eben eine Anreicherung der Organe, da der Prozentgehalt aller Phosphorarten im Vergleich zu den früheren Werten beträchtlich ansteigt. Wenn man berücksichtigt, daß die Zunahme, die der P der Phosphatide enthält, eine relativ unbedeutende ist und nicht imstande ist, die allgemeine starke Phosphorzunahme zu erklären, so müßten wir annehmen, daß nicht alles Lecithin als solches abgelagert wird, sondern daß daraus eine Reihe von für den Organismus nötigen Verbindungen gebildet werden; das Lecithin bedingt sogar eine Vermehrung des anorganischen Phosphors, d. h. es zerfällt im Organismus in seine Komponenten, ehe es zu den Zellen gelangt. Es wird beobachtet, daß zuerst die inneren Organe mit Phosphor versorgt werden, Muskeln und Knochenmark dagegen erwiesen sich auch nach

der Lecithinfütterung als arm an Phosphor. Auf diese Weise kommt dem Lecithin sowohl in bezug auf Assimilation als auch durch die Art, wie der Bedarf an verschiedenen Phosphorverbindungen durch dasselbe gedeckt wird, unzweifelhaft eine große Bedeutung zu.

Was die Gruppe der Milchhunde anbetrifft, so können wir im allgemeinen sagen, daß Milchnahrung bei längerer Dauer zu Phosphorhunger führt. In der ersten Lebenszeit wird durch Milch nicht nur die Bilanz erhalten, sondern auch Wachstum und Entwicklung des Tieres ermöglicht. In einer späteren Periode dagegen, wenn das Tier normalerweise gemischte Nahrung erhalten müßte, hört dieselbe auf, allen Bedürfnissen zu genügen und kann das Tier nicht vor den Folgen eines chronischen Phosphorhungers bewahren. Da ein Teil des Bedarfes durch den Phosphor der Milch gedeckt wird, so kann der Organismus ziemlich lange gegen den Phosphorhunger ankämpfen, dafür verarmt er aber während dieser langen Periode bedeutend stärker an Phosphor. Diese Verarmung erfolgt auch hier hauptsächlich auf Rechnung des anorganischen Phosphors der Gewebe und Organe, während der Gehalt an organischem Phosphor in denselben sogar erhöht erscheint im Vergleich zu früher.

Tabelle IV.

Verteilung des Phosphors der Phosphatide.

Hunde	Gehirn		Leber		Niere		Lunge	
	Absolut. P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absolut. P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absolut. P-Gehalt mg	P-Gehalt %	Absolut. P-Gehalt mg	P-Gehalt %
II. Familie:								
Nr. 6 Kontrolltier .	—	—	43,9	0,29	8,7	0,27	—	—
„ 5 Album.+Glyc.	—	—	30,0	0,27	8,3	0,27	—	—
„ 4 Album.	87,1	0,77	33,5	0,31	6,6	0,22	—	—
„ 3 Milch	84,2	0,67	32,6	0,22	7,9	0,27	—	—
„ 2 Lecithin . . .	—	—	63,4	0,33	—	—	13,8	0,32
„ 1 P-arm	50,1	0,47	12,5	0,13	7,8	0,35	15,9	0,45
III. Familie:								
„ 7 Kontrolltier .	54,1	0,71	26,2	0,26	—	—	—	—
„ 8 „ .	—	—	71,8	0,28	15,2	0,34	10,0	0,38
„ 10 Brei+Phosph.	51,3	0,64	24,1	0,23	5,7	0,32	—	—
I. Familie:								
„ 11 Brei, P-arm .	114,4	0,76	45,5	0,26	5,9	0,27	—	—
„ 13 Kontrolltier .	488,3	0,81	116,7	0,17	34,7	0,31	—	—

Ein Teil des P der Phosphatide kann dagegen für den Bedarf des Organismus verwendet werden, und daraus resultiert eine geringfügige Abnahme derselben. Bei Albuminmilch treten diese Erscheinungen der Phosphorverarmung noch früher und stärker auf, aber das Endresultat ist das gleiche. Auf diese Weise sehen wir, daß Milch nicht imstande ist, während längerer Zeit wachsenden, alles fressenden Tieren als Nahrung zu dienen, und dieses wird zum Teil durch die Armut der Milch an Phosphorverbindungen bedingt.

Bestimmung der fermentativen Funktion der Organe.

Die Frage über die intracellulären Fermente ist noch zu wenig ausgearbeitet, vieles ist darin noch zu unklar, als daß wir uns leicht in jeder einzelnen Frage orientieren könnten.

Bei meinen Versuchen wurden indessen so starke Schwankungen der fermentativen Energie der Organe beobachtet, daß unsere Aufmerksamkeit unwillkürlich darauf gelenkt wird. Am wenigsten bearbeitet ist die Frage über die Fermente im jugendlichen Alter. Daher mußte ich bei der Analyse der gewonnenen Ergebnisse nebenbei noch die Frage über die normale Entwicklung der Fermente im gegebenen Alter berühren.

Versuchen wir ein kurzes allgemeines Resümee auf Grund der oben angeführten Daten der Untersuchung der einzelnen Fermente zu geben. Zweifelsohne dient der Fermentreichtum des Organismus als Wahrzeichen für das Gedeihen desselben; unter diesen Bedingungen wird das Maximum des Wachstums und der Entwicklung der einzelnen Organe ermöglicht. Während dieser Periode, wo der Organismus sich am intensivsten entwickelt und eine ganze Menge von Zellen neu entstehen, bedarf der Organismus ganz besonders günstiger Bedingungen für die Tätigkeit der Fermente. Es handelt sich hier nicht nur darum, das Leben des Organismus zu unterhalten, sondern auch die neu entstehenden Zellen mit einem Vorrat von fermentativer Energie zu versehen. Wir wissen noch nicht genau, welche Bedingungen für die Fermente besonders günstig sind. Diese Frage ist sehr kompliziert und kann von einer ganzen Reihe von Faktoren abhängen. Im Vordergrunde steht natürlich die genügende Zugabe von Nährmaterial. Vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, klar-

Tabelle

Allgemeine Übersicht über die Veränderungen

Nr. der Hunde	Leber				Gehirn				Niere			
	Katalase	Lipase	Amylase	Diastase	Katalase	Lipase	Amylase	Diastase	Katalase	Lipase	Amylase	Diastase
II. Familie:												
6	16,28	3640	1480	4499	0,46	901	920	2649	2,52	332	499	409
5	12,10	2508	1110	3344	0,48	499	2400	844	3,51	372	468	480
4	14,55	2568	2675	1712	5,76	406	1762	2214	0,98	706	725	667
3	5,75	1999	2293	3939	0,62	175	3125	2125	1,94	261	725	672
2	19,18	2622	2964	12540	Sp.	478	2074	2128	4,08	326	800	972
1	5,28	1728	2400	1190	3,15	483	1050	924	0,26	228	543	915
III. Familie:												
7	31,62	1260	1560	2320	—	—	1185	395	3,42	99,2	400	793
8	18,87	8035	6200	6646	—	—	2500	880	8,22	897	1760	1020
9	9,02	1880	2350	3242	0,43	323	2125	1045	4,44	187	218	224
10	8,56	1754	4080	3529	0,47	347	1975	1706	2,35	237	2080	518
I. Familie:												
11	23,46	2436	6960	10370	10,20	240	1500	2400	8,22	158,4	343	1091
12	40,05	2232	1240	3323	16,35	364	2028	3952	28,14	182,4	600	1680
13	57,36	16008	6670	25079	20,40	1440	6000	16920	9,77	—	1110	3552

zulegen, wie sich die Fermente im Organismus entwickeln, wenn genügend Eiweiße, Fette und Kohlenhydrate zugeführt werden, daneben aber Phosphormangel besteht. Ohne Zweifel sehen wir sowohl in der Physiologie wie besonders der Pathologie der Fermente viele unerforschte, unklare, nicht gesetzmäßige Tatsachen.

Auch in unseren Versuchen lassen sich lange nicht alle Schwankungen der fermentativen Energie erklären, aber das Vorhandensein so scharfer Unterschiede fesselt unwillkürlich unsere Aufmerksamkeit. Natürlich ist post hoc noch nicht propter hoc. Man könnte mir erwidern, daß freilich bei der gegebenen Versuchsanordnung starke Schwankungen in der fermentativen Wirkung auftraten, dieses aber ein Zufall sein könne, und vielleicht von anderen, von mir nicht beachteten, nicht richtig eingeschätzten Einflüssen abhänge. Stände mir nur ein Fall zur Verfügung, könnte man die Sache natürlich dem Zufall zuschreiben, wenn aber bei einer Reihe von Tieren das gleiche Bild beobachtet wird, das nur in Einzelheiten differiert, so gewinnen unsere Schlußfolgerungen schon den Charakter des Authentischen. Es fragt sich nun, ob hier andere Faktoren eine Rolle spielen könnten als der Phosphormangel

V[1]).
der fermentativen Funktion der Organe.

Herz				Lunge				Pankreas			
Katalase	Lipase	Amylase	Diastase	Katalase	Lipase	Amylase	Diastase	Katalase	Lipase	Amylase	Diastase
0,122	76	240	518	0,25	456	468	1128	0,168	186	1093	375
0,51	64	230	616	0,42	633	825	1504	0,189	130	546	347
Sp.	88	343	193	4,66	843	925	991	0,476	182	1000	99
0,16	75	421	432	0,26	673	1275	2121	Sp.	154	2200	136
Sp.	72	140	448	0,79	598	1100	1496	—	146	420	Sp.
0,22	108	270	626	1,66	490	875	510	—	166	400	Sp.
0,19	37,0	111	176	0,99	141	600	456	0,245	91	2500	243
0,66	184	700	806	0,47	494	1040	1081	0,360	426	1100	272
0,13	112	170	210	0,74	514	550	352	Sp.	153	7000	263
Sp.	64	180	316	0,82	349	760	372	0,092	246	2812	208
3,26	128	400	928	2,39	433	733	1334	0,48	232	2998	2340
1,16	112	546	1064	33,20	350	546	1736	1,47	231	2832	2108
12,37	457	780	2038	4,25	1465	3125	7200	2,45	847	18500	3078

der Nahrung. Natürlich wäre das möglich, wenn die Versuche unter verschiedenen Bedingungen bei verschiedenen Umständen stattgefunden hätten. Unsere Versuche indessen erfolgten alle unter den gleichen Bedingungen, der einzige Unterschied bebestand in der Diät. Aber vielleicht traten alle diese Erscheinungen einfach deswegen auf, weil die Tiere in einem gewissen Sinne immerhin hungerten und bei jeder Art Hunger solche Erscheinungen auftreten? Darauf kann man erwidern, daß bei unseren Versuchstieren alle Bedingungen erfüllt waren, um Hunger zu vermeiden. Hungerten sie trotzdem, so lag die Ursache nicht im Mangel an Nährstoffen (Eiweißen, Fetten und Kohlenhydraten), sondern nur darin, daß dank dem Mangel an assimilierbarem P die Bedingungen für den Hunger künstlich geschaffen wurden. Wenn es sich aber so verhält, dann sind wir berechtigt, alle beobachteten Erscheinungen gerade mit dem Phosphormangel in Zusammenhang zu bringen.

[1]) In dieser Arbeit sind nur die Zahlen der fermentativen Funktion, für das ganze Organ berechnet, angegeben; die Zahlen der fermentativen Energie eines Gramm des getrockneten Organs sind in meiner Dissertation zu finden.

Bei einem allgemeinen Überblick über die Entwicklung der Fermente beobachten wir bei normalen Entwicklungsbedingungen, d. h. bei gemischter Fleich-Milchdiät, eine Verstärkung der fermentativen Energie: es erfolgt eine starke Erhöhung der lipolytischen, amylolytischen und diastatischen Energie der Organe und eine relativ schwächere der katalytischen und nucleolytischen. Sobald die Hündchen des Phosphors der Nahrung beraubt werden, sistiert die Entwicklung der Fermente. Nicht nur, daß keine Weiterentwicklung der fermentativen Tätigkeit erfolgt, es sinkt sogar die Energie, die zu Beginn der Versuche bestand; besonders stark wirkt die Energie der Lipase, Amylase und Diastase, aber auch für Katalase und Nuclease wird die gleiche Tendenz beobachtet.

Am meisten leidet die fermentative Funktion der Leber, relativ wenig diejenige von Gehirn und Herz. Wir gewinnen den Eindruck, daß bei phosphorfreier Nahrung die für die Entwicklung der Fermente günstigen Bedingungen fehlen, es fehlt der passende „Nährboden". Vielleicht dient der assimilierte Phosphor auch als eine Art Stimulans, das die Erhöhung der fermentativen Energie ermöglicht.

Berücksichtigen wir die Resultate, welche die Untersuchung des Phosphorgehaltes der Organe bei Fütterung der Hunde mit anorganischen Phosphaten und Glycerophosphaten ergeben, und die Schlußfolgerung, daß diese Verbindungen zwar resorbiert werden, aber nicht bis zu den Zellen gelangen, ferner nicht imstande sind an der Bildung komplizierter Verbindungen teilzunehmen und in diesem Sinne für den Organismus wertlos sind, dann verstehen wir mit Leichtigkeit die Daten, die wir bei der Untersuchung der fermentativen Funktion der Organe gewonnen. Wenn diese Verbindungen nicht vom Organismus resorbiert werden, so resultieren trotz Zuführung derselben die Bedingungen des Phosphorhungers. Aus der Literatur wissen wir übrigens, daß sogar die anorganischen Phosphate augenscheinlich die fermentative Funktion verstärken können. Doch stehen diese Beobachtungen vereinzelt da und sind fast gar nicht von anderen Autoren kontrolliert. Auch bei meinen Beobachtungen waren die Schwankungen relativ geringer, wenn Phosphate und Glycerophosphate mit der Nahrung zugeführt wurden. Um die

Frage zu lösen, ob dieser Zusatz günstig auf die Fermente einwirkt, sind speziell ausgeführte Versuche notwendig; in meiner Arbeit aber deute ich nur die Hauptmomente an, ohne auf eine detailliertere Bearbeitung der gefundenen Werte einzugehen. Von diesem Standpunkt aus betrachten wir im folgenden auch die gefundenen Werte für die fermentative Tätigkeit der Organe von Hunden, denen Phosphate zugeführt wurden. Wir sehen, daß der Fermentgehalt dabei etwas vermehrt ist im Vergleich mit dem Befunde vor dem Versuch. Eine besondere Verstärkung erfährt die amylolytische Energie, dann die diastatische und lipolytische; die Energie der Katalase und Nuclease sinkt dagegen. Diese Vermehrung erreicht natürlich nicht die Werte, wie wir sie bei dem normal sich entwickelnden Hündchen (Nr. 8) beobachten, aber das vollkommen des Phosphors beraubte Tier konnte nicht einmal die frühere Phosphormenge bewahren; das will sagen, daß die Bedingungen für die Fermente in diesem Falle relativ günstiger waren. Ich muß indessen hier gleich bemerken, daß das letztere Hündchen bedeutend länger lebte, als dasjenige, welches Phosphate erhielt; möglich, daß dadurch der Fermentgehalt beeinflußt wurde. Die gleichen Schwankungen wurden auch bei dem, Glycerophosphate erhaltenden Hunde beobachtet. Man beurteile diese Tatsachen wie man wolle, unzweifelhaft ist, daß auch bei Zufuhr von Phosphaten und Glycerophosphaten keine vollkommen günstigen Bedingungen für die normale Fermententwicklung geschaffen werden. Ein eigenartiges Bild entstand bei Fütterung mit Lecithin. Während der vorhergehenden Periode des Phosphorhungers mußte der Organismus des Hundes an Fermenten verarmen; trotzdem beobachten wir eine deutliche Differenz beim Vergleich der auf diesen Hund bezüglichen Zahlen mit denjenigen des Hundes Nr. 1. Die amylolytische, diastatische und katalytische Energie der Organe hat nicht nur die früheren Werte erreicht, sondern sogar zugenommen; die lipolytische und nucleolytische Energie dagegen hat zwar im Vergleich zu dem Hunde Nr. 1 während der Periode der Lecithinfütterung zugenommen, aber nicht die Höhe erreicht wie vor derselben. Die Verstärkung der einen Fermente und Beginn der Regeneration bei den anderen fällt auf. Bei Lebzeiten beobachten wir, daß sich das Hündchen

unmittelbar nach der Lecithinfütterung etwas erholte, das Gewicht nahm zu, am Schluß des Versuches erfolgte aber wieder eine Verschlimmerung. Unwillkürlich möchte man diese objektive zeitweilige Besserung mit dem Beginn der Fermentregeneration in Zusammenhang bringen. Doch ist das Lecithin ja nur eine der vielen Phosphorverbindungen und ist nicht imstande, alle für den Organismus notwendigen Verbindungen zu ersetzen. Man kann sich die Sache folgendermaßen vorstellen. Sobald man anfing dem Organismus eine der wichtigen Verbindungen in assimilierbarer Form zuzuführen, nutzte er diese sofort aus, deckte seine erschöpften Vorräte, erneuerte seine Energie und erreichte dadurch eine zeitweilige Besserung seines Zustandes. Zu einer Weiterentwicklung dieser Energie für weiteres Wachstum bedarf es trotzdem noch anderer, uns vielleicht noch unbekannter Faktoren, ferner anderer nicht weniger wichtiger Verbindungen. In jedem Falle sprechen die bei der Untersuchung des Phosphor- und Fermentgehaltes gefundenen Zahlen augenscheinlich dafür, daß wir im Lecithin ein mächtiges Mittel besitzen, sowohl für die Bereicherung des Organismus an Phosphor wie für die Aktivierung resp. Regeneration der Fermente. Daß aber die Fermente aktiviert werden oder regenerieren können, veranschaulicht uns der Versuch mit dem Hunde Nr. 8. Während der vorhergehenden Periode des Phosphorhungers mußte er gleichfalls an Fermenten verarmen. Die Zeit, als er schon zur Fleischnahrung übergeführt war, aber noch lange auf dem gleichen Gewicht stehen blieb, muß in Verbindung gebracht werden mit der ungenügenden Funktion der Fermente. Darauf begann das Gewicht rasch anzusteigen, und die Untersuchung der Organe ergab auch eine bedeutende Vermehrung der fermentativen Energie.

Von demselben Gesichtspunkte aus treten wir an die Erklärung der Erscheinungen bei der Gruppe der Milchhunde heran. Die Tatsache, daß das Hündchen, das sehr lange mit Kuhmilch ernährt wurde, im Verlaufe von beinahe drei Wochen einen Gewichtsstillstand aufwies, findet seine Erklärung in der geringen fermentativen Energie der Organe. Sowohl für Lipase, wie Katalase, Amylase, Diastase und Nuclease aller Organe fanden wir die gleichen Zahlen wie beim Hündchen, das phos-

phorarme Grütze erhielt. Während der langen Versuchszeit fand nicht nur keine Entwicklung der fermentativen Tätigkeit statt, wie es der Fall sein müßte, sondern der Organismus erschöpfte noch seinen anfänglichen Vorrat. Man muß annehmen, daß auch in der Milch diejenigen stimulierenden oder in anderer Beziehung notwendigen Stoffe fehlen, die für die Entwicklung der Fermente notwendig sind. Daß die letzte Ursache auch hier im Phosphormangel liegt, bestätigt der Versuch mit dem Albuminhunde. Da der Phosphorgehalt der Albuminmilch noch geringer ist, so ist verständlich, daß der Organismus trotz einer kürzeren Versuchsdauer noch mehr an Fermenten verarmte.

Resümieren wir alle Daten hinsichtlich der fermentativen Funktion der Organe, so müssen wir sagen, daß ein vollkommener Parallelismus zwischen dem Phosphor der Nahrung und der fermentativen Energie der Organe beobachtet wird. Welche Rolle dabei der Phosphor spielt, ob er als eine Art Stimulans auf die Fermente wirkt oder einfach einen günstigen Nährboden für dieselben schafft, diese Fragen bleiben offen. Das Faktum der Wechselwirkung erscheint aber mehr oder weniger wahrscheinlich. Ohne weitgehende Entwicklung der fermentativen Funktion der Organe kein Leben, ohne genügende Zufuhr von assimilierbarem Phosphor augenscheinlich keine Möglichkeit einer normalen Entwicklung der Fermente.

Ehe ich meine Arbeit abschließe, möchte ich bei einigen Fragen näher verweilen. Vor allem wollen wir vom Standpunkte der von uns gefundenen Tatsachen die Frage zu lösen suchen, ob der tierische Organismus imstande ist, komplizierte phosphorhaltige Verbindungen aus phosphorfreien Eiweißen und Phosphaten zu synthetisieren. Auf Grund einer ganzen Reihe einzelner Beobachtungen und Tatsachen kann man als beinahe feststehend betrachten, daß jeder tierische Organismus, vielleicht auch jedes Organ eine ganz eigenartige, feine, nur ihm eigentümliche Struktur besitzt. Wie nahestehend die einzelnen Substanzen — Eiweiße, Fette und Kohlenhydrate — der verschiedenen Tiere auch seien, der Organismus ist immerhin nicht imstande, fremdartige Eiweiße, Fette als Ganzes zu assimilieren, er baut sie entsprechend seiner Eigenart um. In diesem Sinne geht im Organismus beständig eine höchst komplizierte und intensive Arbeit von Zerstörung und Aufbau, beständiger Spal-

tung und Synthese vor sich. Geleistet wird diese Arbeit hauptsächlich von den intracellulären Fermenten. Die Verdauung im Magen-Darmkanal ist bloß die erste Etappe in einem höchst komplizierten Prozeß, der schließlich zur Bildung der lebenden Zelle führt. Hier wird das Nährmaterial nicht nur in eine bequem resorbierbare Form übergeführt, sondern vor allem radikal gespalten; er zerfällt in seine Bestandteile, die „Bausteine". Die Fermente des Magen-Darmkanals erscheinen einfach als Arbeiter, die den komplizierten Bau in seine Bestandteile zerlegen. Der Organismus dagegen mit seinen intracellulären Fermenten ist der Baumeister, der aus diesem Material den ihm erforderlichen Bau errichtet. Die zugeführten, bereits bearbeiteten Bestandteile sind alle noch ziemlich kompliziert; der Organismus kombiniert sie entsprechend seinem Plane und bildet die verschiedenen erforderlichen Komplexe. Und ähnlich dem, wie dem Architekten zuweilen ein unbedeutender Umbau genügt, um ein neues, anderen Zwecken entsprechendes Gebäude ins Leben zu rufen, so werden auch dem Organismus zuweilen komplizierte, beinahe ungespaltene Substanzen zugeführt. Bei verschiedenartiger Nahrung tierischer und pflanzlicher Provenienz werden dem Organismus alle notwendigen Bausteine zugeführt, und es ist ihm ein leichtes, dieselben für seine Zwecke zu verwenden.

Darin liegt die raison d'être der organischen Phosphorverbindungen, ihr Vorzug und ihre Unersetzbarkeit. Ganz anders liegen die Dinge bei den anorganischen Phosphaten und Glycerophosphaten. Theoretisch können wir uns eine Synthese auch aus diesen denken, aber nur bei Gegenwart aller dazu notwendigen Komponenten, d. h. bestimmten „Bausteine".

Die Sache ist aber die, daß wir noch nichts Genaueres darüber wissen, wie die Synthese z. B. des Lecithins oder Nucleoproteids im Organismus erfolgt, welche Komponenten dazu erforderlich sind. Bloß auf indirektem Wege können wir mutmaßen, daß die Eiweißkomponente von ganz eigenartigem Charakter sein muß, damit eine Verbindung der Phosphorsäure mit dem Eiweiß eintreten könne; die Bildung der Lecithine erfordert eigenartige Komponenten, die der Nucleoproteide wieder andere. Gerade diese Gruppen sind es, die für die Phosphorsäure eine Art von vollkommen spezifischen Receptoren dar-

stellen. In Gegenwart dieser erfolgt die Bindung mit der Phosphorsäure mit Leichtigkeit, im entgegengesetzten Falle können die Phosphate im Organismus zirkulieren, ohne imstande zu sein, eine Bindung einzugehen. Gelänge es nachzuweisen, daß in den Spaltungsprodukten bei jeder Art Nahrung allerlei „Receptoren“ der Phosphorsäure enthalten sind oder, sobald es möglich würde, diese Receptoren parallel mit den Phosphaten einzuführen, dann wäre es für den Organismus gewiß gleichgültig, ob ihm der Phosphor in organischer oder anorganischer Form zugeführt wird.

Der Vorzug und die Unersetzbarkeit der organischen Phosphorverbindungen besteht darin, daß in deren Resorptionsprodukten dem Organismus immer alle nötigen „Bausteine“ zur Verfügung stehen; bei Zufuhr von Phosphaten und Glycerophosphaten allein ist der Organismus dagegen oft nicht imstande, die nötigen Verbindungen zu bilden, da die dazu notwendigen Komponenten fehlen. Von diesem Standpunkte aus beurteilte ich die von mir beobachteten Tatsachen für die Lösung der Frage über die Synthese.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß bei Nahrung von der gegebenen Zusammensetzung in den Verdauungsprodukten notwendige Komponenten fehlten und der Organismus weder Phosphate noch Glycerophosphate ausnutzen konnte.

Nun fragt es sich, welche Rolle der Phosphor dann überhaupt im Organismus spielt. Ich kann nicht umhin, daran zu erinnern, daß der Frage über den Phosphor bis vor kurzem gleichsam eine untergeordnete Bedeutung beigemessen wurde. Der Einfluß des Calciums auf den Organismus wurde genau studiert, den Eisensalzen eine hervorragende Bedeutung zugeschrieben. Die hübsche, auf zahlenmäßigem Material beruhende Theorie von Bunge über die Rolle des Eisens im Organismus besitzt noch heute ihren Wert. Er studierte die Zusammensetzung der Asche von Milch und neugeborenen Hündchen und fand, daß der Eisengehalt bei letzteren sein Maximum bei der Geburt erreicht. Mit diesem Vorrat an Eisen geht der Organismus höchst ökonomisch um, trotzdem nehmen die Eisenvorräte ab. Der Zeitpunkt, wo dieselben ihr Minimum erreichen, entspricht dem Übergang des Tieres auf gemischte Nahrung. Die Zahlen sind zu überzeugend, um bestritten zu werden. Es muß aber bemerkt werden, daß diese Theorie einseitig ist und

die anderen Salze gleichsam in den Schatten stellt. Und in diesem Sinne lasse ich mir schwerlich eine Übertreibung zuschulden kommen, wenn ich sage, daß der Phosphor für die normale Entwicklung des jungen Tieres nicht weniger notwendig ist als das Eisen. Natürlich bestreite ich dabei nicht, daß auch andere Salze eine nicht weniger wichtige Rolle spielen können. Meine Versuche mit absichtlich lange ausgedehnter Milchfütterung ergaben, daß der Organismus dabei stark an Phosphor verarmt, seine Vorräte stark erschöpft. Tiere, die einen an Calorien reichen, aber an Phosphor armen Brei erhielten, verbrauchen ihre Phosphorvorräte noch rascher, indem sie einen Teil ihrer Organe und Gewebe opfern. Es ist auch schwer anzunehmen, daß ein so weitverbreitetes Element, das einen so wichtigen Platz in der Asche aller Organe, aller Nahrungsmittel einnimmt, für den Organismus gleichgültig sei. Ohne ein bestimmtes Phosphorminimum kein Leben, das ist kein leeres Wort, sondern Tatsache. Der Organismus bedarf für seine normale Entwicklung, das Wachsum seiner Gewebe der Phosphorverbindungen und dabei in ziemlich beträchtlichen Mengen. Die Bedeutung des P für das intracelluläre Leben ist zwar noch unklar, und wir sind auch nicht mit den Details der einzelnen Etappen im Phosphorkreislauf vertraut, aber alle unsere Versuche sprechen dafür, daß der P für den Organismus unbedingt notwendig ist. Ein gewisses Licht verbreiten in dieser Beziehung die Beobachtungen über die fermentative Funktion der Organe. Unzweifelhaft spielen die Fermente im Leben des Organismus eine kolossale Rolle, dienen als Unterpfand für die normale Entwicklung. Der Parallelismus zwischen dem Gehalt der Nahrung an assimilierbarem Phosphor und der Intensität der fermentativen Funktion der Organe ist so groß, so konstant, daß unsere Aufmerksamkeit unwillkürlich dadurch gefesselt wird. Unzweifelhaft verdient diese Erscheinung eine spezielle Bearbeitung, die Licht über dieses interessante Gebiet verbreiten würde.

In der mächtigen Entwicklung der Lehre von den Fermenten liegt das Unterpfand für die Entwicklung der Biochemie, und jede neue Tatsache, die den Schleier über dem Laboratorium unseres großen Alchimisten, der Zelle, ein wenig lüftet, verdient Beachtung.

Zum Schluß gestatte ich mir, noch ein wenig bei der praktischen Seite der Beobachtungen zu verweilen. Als unmittelbares Resultat der Arbeit erscheint der Umstand, daß wir die wichtige Bedeutung des Phosphors und den Vorzug der organischen Verbindungen vor den anorganischen Phosphaten und Glycerophosphaten konstatieren. In Anbetracht der weiten Verbreitung letzterer bei der Behandlung verschiedener Krankheiten will ich noch einige Worte darüber bemerken. Für den Organismus ist es durchaus nicht gleichgültig, in welcher Form der Phosphor ihm zugeführt wird: die anorganischen Phosphate und Glycerophosphate sind für die Anreicherung des Organismus an Phosphor, die Ablagerung desselben in den Organen von geringem Nutzen. Das, was einige Autoren (Marfori, Tyshnenko u. a.) auf Grund von Stoffwechseluntersuchungen vermuteten, wird bei unserer Methode: der Untersuchung der Organe auf ihren Phosphorgehalt, besonders deutlich. Verhält es sich aber so, dann sind wir berechtigt unsere Beobachtungen auch auf Kinder, auf die Therapie überhaupt zu beziehen und vor der Überschätzung der Phophate und Glycerophosphate zu warnen. Da, wo eine Vergrößerung des Phosphorgehaltes im Organismus erwünscht ist, erreichen wir unser Ziel nicht, wenn wir die genannten Verbindungen verordnen. Man kann mir darauf erwidern, daß auch mit diesen bei der Behandlung verschiedener Krankheiten oft gute Resultate erzielt wurden. Indessen hat ja noch niemand die Anreicherung des Organismus an Phosphor dabei experimentell bewiesen; das günstige Resultat konnte von dem Einfluß der einzelnen K-, Na-, Ca-Ionen abhängen. Die Phosphatide und speziell das Lecithin verdienen dagegen eine weite Verbreitung, und in dieser Beziehung stimmen meine leider wenig zahlreichen Beobachtungen mit den vielfachen Beobachtungen anderer Autoren überein, welche die ausgezeichnete Resorbierbarkeit des Lecithins und die Phosphoranreicherung des Organismus dabei beweisen. Unzweifelhaft aber wird der Phosphor bei natürlicher gemischter Nahrung noch besser resorbiert, und nur unter dieser Bedingung ist das Maximum der Lebensentwicklung jeder Zelle möglich. Die gefundenen Tatsachen mahnen auch zur Vorsicht hinsichtlich der Phosphorsalze bei der Ernährung des Kindes. In unserem Zeitalter, in dem die kindliche Diätetik weit verbreitet

ist, wo Milch und andere Nahrungsmittel für Kinder einer Reihe von Manipulationen unterworfen werden, droht leicht die Gefahr, daß der Phosphorgehalt der Nahrung herabgesetzt wird oder die organischen Verbindungen derselben in anorganische übergeführt werden. Die starken Schwankungen in der fermentativen Funktion der Organe bei Hunden, die unter Bedingungen aufwuchsen, die denen bei Kindern analog sind, veranlassen uns, unsere spezielle Aufmerksamkeit auf diese Seite des Lebens auch bei Kindern zu lenken. Dessenungeachtet werden die Fragen über die Abhängigkeit der fermentativen Funktion des Brustkindes von der Art der Nahrung, über den Gehalt an intracellulären Fermenten in den Organen in der Kinderheikunde kaum berührt. Diese Untersuchungen wären aber imstande vieles aufzuklären in der Pathologie und Physiologie des Kindes.

Indem ich meine Arbeit hiermit abschließe, muß ich bemerken, daß in der von mir untersuchten Frage vieles natürlich noch unklar, unerforscht bleibt. Die Frage ist auch zu kompliziert, als daß sie mit einem Male zu lösen wäre. Es wird noch eine Reihe von Jahren vergehen, ehe wir das Rätsel des Phosphorkreislaufes im Organismus kennen werden, ehe uns das Geheimnis seiner Wirkung auf den Organismus, der Wechselwirkung von Phosphor und intracellulären Fermenten offenbar wird, es werden noch viele Arbeiten darüber erscheinen und jede neue Arbeit wird einen Schritt weiter bedeuten in der Erforschung der Wahrheit; von einem aber bin ich fest überzeugt, nämlich, daß sie alle, unabhängig von ihrem Inhalt, die Tatsache bestätigen werden, daß der Phosphor eine ungeheure Rolle in der Biologie spielt.

Über Plasteinbildung.

II. Mitteilung.

Von

P. Glagolew.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium der Medizinischen Hochschule für Frauen zu St. Petersburg.)

(*Eingegangen am 8. September 1913.*)

Die Frage, ob die Plasteinbildung aus Spaltungsprodukten der Eiweißstoffe ein fermentativer Prozeß ist, ist gegenwärtig in positivem Sinne entschieden worden[1]).

Gleichfalls als geklärt ist der Umstand anzusehen, daß in chemischer Hinsicht die Plasteinbildung einen Rückbildungsprozeß der Hydrolysenprodukte der Eiweißstoffe vorstellt; wenigstens ist gegenwärtig festgestellt, daß dem Prozeß ein Zusammenschluß vieler freier NH_2-Gruppen zugrunde liegt[2]). Somit kann von Reversibilität der Reaktion unter Einfluß der Eiweißfermente (Magen- und Pankreassaft), sowie auch von Reversibilität des fermentativen Prozesses unter Einfluß des Lipasefermentes gesprochen werden. Und wenn, wie Pottevin[3]) gezeigt hat, die entscheidende Rolle bei Verlauf der Lipasewirkung in der einen oder der anderen Richtung der Anwesenheit bzw. Abwesenheit von Wasser zufällt, so liegt im gegebenen Falle — nach meinen Beobachtungen an Magensaft und Lösungen

---

[1]) Henriques und Gjaldbäck, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 1911; 81, 1912. — P. Glagolew, diese Zeitschr. 50, 162, 1913.

[2]) l. c.

[3]) H. Pottevin, Sur la reversibilité des actions lypolyt. Compt. rend. 1903. — Synthèse biochemique de l'oleine et de quelques éthers. Compt. rend. S. 138. — Actions diastatiques réversibles. Annales de l'Inst. Pasteur 20, 1906.

des Witte-Labpulvers — das entscheidende Moment im Verhältnis zwischen Konzentration, Acidität und Fermentmenge[1]).

Zur Erforschung der chemischen Vorgänge bei der Plasteinbildung, sowie auch zum Studium des gegebenen Prozesses als eines fermentativen Vorganges, öffnet sich ein weites Forschungsgebiet.

Es muß jedoch vorher der Vorgang der Plasteinbildung näher präzisiert und studiert werden. Die früheren Forscher sprechen von Niederschlägen, die sich unter Einfluß von Eiweißfermenten auf konzentrierte Peptonlösungen bilden; aus der Niederschlagsmenge wurde auf den Umwandlungsgrad geschlossen. Die in vitro erhaltenen Niederschläge dienten als Material zur chemischen Analyse und wurden mit Eiweiß identifiziert (A. Danilewsky 1885, Okunew 1895). Man sprach von den Bedingungen, die eine „Albuminisation" des Peptons förderten, und es wurde darauf hingewiesen, daß ein Zusatz von Salz — insbesondere NaCl — ein starker Beschleuniger der Rückverwandlung ist, daß die Albuminisationsfähigkeit der Peptone bei Befreiung derselben von Salzen (NaCl, Ca, Mg) nicht eintritt[2]).

In Gegensatz hierzu kommt Sawjalow[3]) auf Grund seiner Beobachtungen zum Schluß, daß als primäre Regenerationsform ein löslicher globulinartiger Körper auftritt, der durch einen gewissen Salzgehalt ($CaCl_2$, NaCl) gefällt wird.

Bei Beobachtung der Plasteinbildung an verschiedenem Material läßt sich leicht bemerken, daß öfters äußere, physikalische Änderungen, die mit der Plasteinbildung zusammenhängen, nicht der Größe der chemischen Verwandlung der Peptone, wie sie durch Titration des $N(NH_2)$ nach Sörensen gemessen wird, entsprechen: weder die Menge des ausfallenden Niederschlages noch die Änderung der Konsistenz der Flüssigkeit können als Maßstab der chemischen Umwandlung dienen, soweit wir die letztere aus der Anzahl der sich zusammenschließenden NH_2-Gruppen beurteilen können.

In vorliegender Arbeit habe ich auf Vorschlag von Prof. B. Slowtzoff mir zur Aufgabe gestellt, zu untersuchen, wie

[1]) P. Glagolew, l. c.

[2]) Okunew, Dissertation (russisch) 1895.

[3]) Sawjalow, Dissertation Jurjew 1899; Centralbl. f. Physiol. **16**, 22, 1902.

die Plasteinbildung möglichst vollkommen von Salzen befreiter Peptone, verglichen mit der Plasteinbildung bei Anwesenheit geringer Mengen einiger Salze, verläuft.

Zu diesem Zweck wurden der Plasteinbildung unterworfen konzentrierte Lösungen des Witte-Peptons und der Fleischverdauungsprodukte durch Magensaft, die vorher längere Zeit in fließendem Wasser dialysiert waren. Als Ferment wurden Lösungen des Labpulvers Witte und natürlicher Magensaft verwandt, die vorher gleichfalls der Dialyse unterworfen waren.

Betreffs der Dialyse dürfte die Mitteilung einiger von mir beobachteter Fakta von Interesse sein:

1. Konzentrierte Peptonlösungen werden am leichtesten von Salzen in saurer Lösung (mit HCl angesäuert) befreit.

2. Die zum Erzielen von Peptonen mit verschwindenden Mengen Salzen (0,016 $^0/_0$ Glührückstand, bei 3 bis 4 $^0/_0$ N) erforderliche Dialysierdauer beträgt etwa 5 Tage.

3. Die verdauenden Flüssigkeiten enthalten nach 1 bis 3tägiger Dialyse in fließendem Wasser einen suspendierten Niederschlag und reagieren gegen Lackmus neutral.

Die Versuche wurden nach der in meiner vorhergehenden Arbeit[1]) benutzten Methodik ausgeführt; hierbei wurden die dialysierten Peptonlösungen durch Abdampfen möglichst stark (etwa bis 45 $^0/_0$) konzentriert und durch Einwirkung dialysierter Lablösung oder dialysierten natürlichen Magensaftes bei wechselnder Acidität mit oder ohne Zusatz einiger Salze (NaCl, $CaCl_2$ und KH_2PO_4) der Plasteinbildung unterworfen. Die Salze wurden in geringer Menge hinzugesetzt, um eine mögliche schädliche Wirkung auf das Ferment zu vermeiden. Der Umwandlungsgrad der Peptone wurde aus der Umwandlung der NH_2-Gruppen durch Titration nach Sörensen ermittelt. Die Parallelversuche wurden bei derselben Peptonkonzentration verglichen und waren stets von einer Kontrolle an gekochten verdauenden Flüssigkeiten begleitet.

Alle Versuche sind in einer Haupttabelle zusammengefaßt.

Bei der Durchsicht der in Versuchsreihe Nr. 1 mit den Fleischverdauungsprodukten, die 3 Tage dialysiert worden sind und 0,072 $^0/_0$ CaO und 0,081 $^0/_0$ HCl enthielten, erhaltenen Resultate fällt auf, daß die äußeren in vitro bemerkbaren Änderungen

---

[1]) l. c.

Haupttafel.

Bei a), a_1), a_2) und a_3) die Kontrolle mit gekochter verdauender Flüssigkeit.

Nummer	Versuchsflüssigkeit	Gesamtstickstoff %	Mineralbestandteile	Menge der Versuchsflüssigkeit ccm	Verdauende Flüssigkeit	Zugesetzt: HCl 1 ccm = 0,04 HCl ccm	Zugesetzt: H_2O ccm	Zugesetzt: 23% NaCl ccm	Zugesetzt: 9,6% $CaCl_2$ ccm	Zugesetzt: 20% KH_2PO_4 ccm	Dauer des Verweilens im Thermostaten Std.	Beschaffenheit der Flüssigkeit	Neutralisation mit 1/5 n-KOH gegen Phenolphthalein ccm	Bestimmungen der $N(NH_2)$ nach Sörensen: Anzahl der ccm KOH beim Titrieren. 1 ccm KOH = 3 mg $N(NH_2)$	Bestimmungen der $N(NH_2)$ nach Sörensen: Differenz des titrierbaren $N(NH_2)$ in ccm KHO
I. 1 a)	Produkte der Fleischverdauung durch Magensaft, dialysiert 3 Tage in schwach saurer Lösung	4,8180	0,081% HCl; 0,072% CaO	je 25 ccm	Lösungen von Witte-Labpulver, dialysiert 2 Tage, je 2 ccm	—	2,0	—	—	—	24	klar	21,9	10,05	± 0
b)						—	2,0	—	—	—		trübe	21,8	10,10	
a_1)						—	—	2,0	—	—		klar	21,2	10,35	± 0
b_1)						—	—	2,0	—	—		trüber	21,2	10,40	
2 a)						0,5	2,0	—	—	—		klar	24,1	11,70	− 0,35
b)						0,5	2,0	—	—	—		geringer Niederschlag	24,1	11,45	
a_1)						0,5	—	2,0	—	—		opalescierend	23,2	12,95	− 0,30
b_1)						0,5	—	2,0	—	—		größererNiederschlag	23,2	12,65	
3 a)					Lösungen von Witte-Labpulv., dialysiert 2 Tage (m. reichlicherem Niederschlag) je 2 ccm	0,5	0,5	—	—	—		opalescierend	24,1	12,30	− 0,50
b)						0,5	0,5	—	—	—		Niederschlag	24,1	11,80	
a_1)						0,5	—	—	0,5	—		opalescierend	25,2	11,50	− 0,55
b_1)						0,5	—	—	0,5	—		größererNiederschlag	25,2	10,95	
II. 1 a)	Witte-Pepton, dialysiert 2 Tage in schwach saurer Lösung	4,5010	0,1260% HCl; 0,1440% CaO; 0,2460% Glührückstand	je 25 ccm	Lösungen von Witte-Labpulver, dialysiert, 2 Tage, je 2 ccm	1,0	2,0	—	—	—	48	klar	31,0	23,90	− 2,60
b)						1,0	2,0	—	—	—		Niederschlag	31,0	21,30	
a_1)						1,0	—	2,0	—	—		klar	30,8	23,90	− 2,60
b_1)						1,0	—	2,0	—	—		größererNiederschlag	30,8	21,30	
2 a)						2,0	2,0	—	—	—	24	klar	36,3	23,60	− 1,70
b)						2,0	2,0	—	—	—		Niederschlag	36,4	21,90	
a_1)						2,0	—	2,0	—	—		klar	36,1	23,60	− 1,80
b_1)						2,0	—	2,0	—	—		größererNiederschlag	36,2	21,80	
3 a)						4,0	2,0	—	—	—		klar	48,3	22,45	− 0,85
b)						4,0	2,0	—	—	—		geringerNiederschlag	48,3	21,60	
a_1)						4,0	—	2,0	—	—		klar	48,1	22,60	− 0,60
b_1)						4,0	—	2,0	—	—		reichl. Niederschlag	48,1	22,00	

4a)						5,0	2,0	—	—	—	48	klar	59,5	22,75	— 0,15
b)						5,0	2,0	—	—	—		gelatiniert	59,5	22,60	
a_1)						5,0	—	2,0	—	—		klar	59,5	23,00	— 0,20
b_1)						5,0	—	2,0	—	—		gelatiniert und trübe	59,5	22,80	
III. 1a)	Witte-Pepton, dialysiert in saurer Lösung	3,1668	0,0186 % CaO; 0,0388 % Glührückstand		Lösungen von Witte-Labpulver, dialysiert 2 Tage, je 2 ccm	—	2,0	—	—	—	42	klar	27,8	17,80	— 0,80
b)						—	2,0	—	—	—		flockig. Niederschlag	27,8	17,00	
a_1)						—	—	2,0	—	—		klar	27,8	17,75	— 0,75
b_1)						—	—	2,0	—	—		reichlicher flockiger Niederschlag	27,8	17,00	
2a)						0,5	2,0	—	—	—	42	klar	30,4	18,00	— 0,85
b)						0,5	2,0	—	—	—		gelatin. Niederschlag	30,4	17,15	
a_1)						0,5	—	2,0	—	—		klar	30,4	18,00	— 0,85
b_1)						0,5	—	2,0	—	—		reichl. flock. Niederschlag auf dem Reagensglasboden	30,5	17,15	
3a)						3,0	2,0	—	—	—	45	klar	44,1	17,65	— 0,35
b)						3,0	2,0	—	—	—		unbedeut. Trübung	44,1	17,30	
a_1)						3,0	—	2,0	—	—		klar	44,1	17,60	— 0,50
b_1)						3,0	—	2,0	—	—		starke Trübung	44,1	17,45	
4a)						—	2,0	—	—	—		klar	27,8	18,70	— 0,80
b)						—	—	—	2,0	—		reichl. gelat. Ndschlg.	28,0	17,90	
5a)						0,5	2,0	—	—	—		do.	30,7	18,35	— 0,95
b)						0,5	—	—	2,0	—		do.	30,8	17,40	
6a)						3,0	2,0	—	—	—		klar	44,8	18,45	— 0,15
b)						3,0	—	—	2,0	—		trübe	45,0	18,30	
IV. 1a)	Witte-Pepton, dialysiert 4 Tage in kaum merklich saurer Lösung	4,6070	0,1000 % CaO; 0,1590 % Glührückstand	je 30 ccm	Lösungen von Witte-Labpulver, dialysiert 2 Tage	—	0,5	—	—	—	40	klar	31,0	27,10	— 0,30
b)						—	0,5	—	—	—		dickflüssig	31,0	26,80	
a_1)						—	—	—	0,5	—		klar	31,0	27,40	— 0,35
b_1)						—	—	—	0,5	—		dickflüssig	31,0	27,05	
2a)						0,5	0,5	—	—	—		klar	33,5	28,15	— 1,65
b)						0,5	0,5	—	—	—		dickflüssig, trübe	33,5	26,50	
a_1)						0,5	—	—	0,5	—		klar	33,5	28,25	— 1,85
b_1)						0,5	—	—	0,5	—		dickflüssig, trübe	33,5	26,40	
3a)						1,5	0,4	—	—	—		klar	38,55	29,00	— 2,00
b)						1,5	0,4	—	—	—		dickflüssig, Ndschlg.	38,55	27,00	
a_1)						1,5	—	—	0,4	—		do.	38,55	29,00	— 2,00
b_1)						1,5	—	—	0,4	—		do.	38,55	27,00	
a_2)						1,5	—	—	1,0	—		do.	38,55	29,20	— 1,90
b_2)						1,5	—	—	1,0	—		do.	38,55	27,30	

Haupttafel (Fortsetzung).

Nummer	Versuchsflüssigkeit	Gesamtstickstoff %	Mineralbestandteile	Menge der Versuchsflüssigkeit ccm	Verdauende Flüssigkeit	Zugesetzt: HCl 1 ccm = 0,04 HCl ccm	Zugesetzt: H_2O ccm	Zugesetzt: 23 % NaCl ccm	Zugesetzt: 9,6 % $CaCl_2$ ccm	Zugesetzt: 20 % KH_2PO_4 ccm	Dauer des Verweilens im Thermostaten Std.	Beschaffenheit der Flüssigkeit	Neutralisation mit 1/8 n-KOH gegen Phenolphthalein ccm	Bestimmungen der $N(NH_3)$ nach Sörensen: Anzahl der ccm KOH beim Titrieren. 1 ccm KOH = 3 mg $N(NH_3)$	Differenz des titrierbaren $N(NH_3)$ in ccm KHO
V. A a)	Witte-Pepton 5 Tage in stark saurer Lösung dialysiert	4,5864	CaO 0,016 %; Glührückstand 0,038 %	je 30 ccm	Magensaft, dialysiert 2 Tage, je 2 ccm	—	0,5	—	—	—	40	klar	48,3	18,35	— 0,55
b)						—	0,5	—	—	—		gelatiniert	48,5	17,80	
a₁)						—	—	—	0,5	—		klar	48,8	18,65	— 0,50
b₁)						—	—	—	0,5	—		gelatiniert	48,5	18,10	
B a)	Dasselbe nach Abstumpfen mit KOH	2,6208				—	0,5	—	—	—	16	klar	18,50	16,70	— 0,45
b)						—	0,5	—	—	—		flockiger Niederschlag	18,55	16,25	
a₁)						—	—	—	0,5	—		klar	18,10	16,70	— 0,40
b₁)						—	—	—	0,5	—		flockiger Niederschlag	18,10	16,30	
VI. a)	Witte-Pepton, dialysiert 5 Tage in stark saurer Lösung	3,4560	CaO-Spuren; Glührückstand —0,016 %	je 30 ccm	Magensaft, dialysiert 2 Tage	1,0	—	—	—	—		klar	26,3	21,00	— 0,90
b)						1,0	—	—	—	—		reichl. Niederschlag .	26,3	20,10	
a₁)						—	—	—	—	1,0		klar	32,3	21,50	— 1,30
b₁)						—	—	—	—	1,0		reichl. Niederschlag .	32,3	20,20	
a₂)						2,5	—	—	—	—		do.	27,8	20,85	— 1,00
b₂)						2,5	—	—	—	—		do.	27,8	19,85	
VII. a)	Pepton, dialysiert 3 Tage in kaum merklich saurer Lösung	4,7200	Glührückstand 0,2000 %; CaO 0,1550 %	je 30 ccm	Lösungen von Witte-Labpulver, dialysiert 2 Tage, je 2 ccm	—	—	—	—	—		klar	17,3	30,40	± 0
b)						—	—	—	—	—		klar	17,3	30,35	
a₁)						—	—	—	—	1,0		geringer Niederschlag	25,5	30,40	— 0,40
b₁)						—	—	—	—	1,0		großer "	25,5	30,00	
a₂)						—	—	—	—	2,5		ebenso, dickflüssig bei b₂ und b₃	34,6	30,45	— 0,60
b₂)						—	—	—	—	2,5			34,6	29,85	
a₃)						—	—	—	—	4,5			42,0	32,05	— 0,50
b₃)						—	—	—	—	4,5			42,0	31,50	

der Flüssigkeit bei der Plasteinbildung unter Einwirkung dialysierter Lablösung beim Zusatz von NaCl (bis 1,84 %) und $CaCl_2$ (bis 0,15 %) von den Änderungen ohne Salzzusatz differieren; die chemische Änderung, gemessen durch den Grad des Zusammenschlusses der NH_2-Gruppen, entspricht jedoch nur wenig den physikalischen Änderungen. Wie aus der Tabelle zu ersehen, ändert sich die chemische Umwandlung einerseits mit dem Zusatz von HCl[1]), hängt aber andererseits nicht vom Zusatz von NaCl und $CaCl_2$ ab.

Nr. des Versuchs	Zugesetzt			Physikalische Änderungen	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
	HCl %	NaCl %	$CaCl_2$ %		
1 a)	—	—	—	Trübung	± 0,00
b)	—	1,84	—	stärkere Trübung	± 0,00
2 a)	0,161	—	—	geringer Niederschlag	— 0,35
b)	0,161	1,84	—	bedeutender Niederschlag	— 0,30
3 a)	0,161	—	—	geringer Niederschlag	— 0,50
b)	0,161	—	0,15	größerer Niederschlag	— 0,55

Noch augenfälliger ist das Resultat der Versuchsreihe Nr. 2 mit dialysierten Lösungen von Witte-Pepton, enthaltend 0,1260 % HCl und 0,1440 % CaO. Hier beobachten wir verschiedene mit dem Vorgang der Plasteinbildung unter Einfluß der dialysierten Lablösung verknüpfte physikalische Änderungen — Ausfallen von Niederschlägen, Gelatinieren, Trübungen —: die physikalischen Änderungen weichen von den bei Hinzufügung von NaCl (bis 1,84 %) auftretenden ab, die chemische Umwandlung erwies sich jedoch in den Parallelversuchen als identisch oder nur in geringem Maße abweichend.

Nr. des Versuchs	Zugesetzt		Physikalische Änderungen	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
	HCl %	NaCl %		
1 a)	0,2260	—	Bei Zusatz von NaCl werden die Niederschläge bedeutend größer	— 2,60
b)	0,2260	1,84		— 2,60
2 a)	0,4460	—		— 1,70
b)	0,4460	1,84		— 1,80
3 a)	0,9660	—		— 0,85
b)	0,9660	1,84		— 0,60
4 a)	1,1260	—	Gelatinierung	— 0,15
b)	1,1260	1,84	Trübung und Gelatinierung	— 0,20

[1]) S. P. Glagolew, l. c.

Andererseits wird unabhängig vom NaCl-Zusatz ein gesetzmäßiger Einfluß der hinzugefügten HCl beobachtet; bei einer Acidität von etwa 0,2 % HCl finden wir ein Umwandlungsoptimum, bei weiterem HCl-Zusatz einen Abfall der Umwandlung, die bei übermäßiger Acidität ganz geringfügig ist.

Nr. des Versuchs	HCl %	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
1 a)	0,226	— 2,60
b)	0,226	— 2,60
2 a)	0,446	— 1,70
b)	0,446	— 1,80
3 a)	0,966	— 0,80
b)	0,966	— 0,60
4 a)	1,126	— 0,15
b)	1,126	— 0,20

Die Versuchsreihe Nr. 3 ist mit einer Lösung von Witte-Pepton angestellt, das unbedeutende Salzmengen (0,038 % Glührückstand bei 3,1668 % N) enthielt. Wie im vorhergehenden Versuche beobachten wir ohne und mit Salzzusatz (NaCl bis 1,84 % und $CaCl_2$ bis 0,634 %) bei variierender Acidität verschiedene äußere Effekte: deutlich flockige Niederschläge, Trübungen oder gelatinöse Niederschläge; ein Zusatz von NaCl und $CaCl_2$ beeinflußt die physikalischen Änderungen, während der Grad der chemischen Umwandlung bei gleichbleibender Fermentmenge nicht durch den Salzzusatz, sondern durch die Konzentration der Salzsäure bestimmt wird.

Nr. des Versuchs	Zugesetzt			Physikalische Änderungen	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
	n-HCl ccm	23 % NaCl ccm	9,6 % $CaCl_2$ ccm		
1 a)	—	—	—	Niederschlag	— 0,80
b)	—	2,0	—	größerer flockiger Niederschlag	— 0,75
c)	—	—	2,0	gelatinöser Niederschl.	— 0,80
2 a)	0,5	—	—	do.	— 0,85
b)	0,5	2,0	—	große Flocken am Boden des Reagensglases	— 0,85
c)	0,5	—	2,0	gelatinöser Niederschl.	— 0,95
3 a)	3,0	—	—	Opalescenz, geringe Gelatinierung	— 0,35
b)	3,0	2,0	—	deutliche Trübung, geringe Gelatinierung	— 0,15
c)	3,0	—	2,0	deutliche Trübung	— 0,15

In der Versuchsreihe Nr. 4 wurde der Einfluß des $CaCl_2$-Zusatzes geprüft; hierbei wurde zur dialysierten Lösung eines Peptons mit 0,1590% Glührückstand und 0,1000% CaO bei 4,607% N vor der Plasteinbildung unter Einfluß von dialysierten Magensaft- und Lablösungen $CaCl_2$ bis zu einem Gehalt von 0,1590% bis 0,4170% hinzugesetzt.

In den Parallelversuchen bestanden die physikalischen äußeren Änderungen in Bildung wenig beweglicher Flüssigkeiten und Niederschläge; hierbei waren die letzteren für die verschiedenen Kombinationen der zugesetzten HCl- und $CaCl_2$-Mengen verschieden; im großen ganzen ging aber die ausfallende Menge nicht parallel mit der Steigerung des $CaCl_2$-Zusatzes, sondern mit dem Anwachsen der HCl-Konzentration.

Nr. des Versuchs	Zugesetzt		Aussehen	Umwandlung bei Titration des $N(NH_4)$ nach Sörensen ccm
	n-HCl ccm	$CaCl_2$ %		
1 a)	—	—	wenig bewegl. Flüssigkeit	— 0,30
b)	—	0,1590	do.	— 0,35
2 a)	0,5	—	wenig bewegl. Flüssigkeit; Trübung	— 1,65
b)	0,5	0,2590	do.	— 1,85
3 a)	1,5	—	wenig bewegl. Flüssigkeit und große, anscheinend gleiche Niederschläge	— 2,00
b)	1,5	0,2259		— 2,00
c)	1,5	0,4170		— 1,90

Wie in den vorigen Versuchen, hängt auch im gegebenen Falle der Grad der chemischen, auf Plasteinbildung beruhenden Umwandlung nur von der Acidität des Reaktionsmediums ab.

Nr. des Versuchs	Zugesetzt n-HCl ccm	Umwandlungsgrad ccm
1 a)	—	— 0,30
b)	—	— 0,35
2 a)	0,5	— 1,65
b)	0,5	— 1,85
3 a)	1,5	— 2,00
b)	1,5	— 2,00
c)	1,5	— 1,90

Die Versuchsreihe Nr. 5 ist mit Pepton ausgeführt, das in stark saurer Lösung dialysiert worden war, 0,0388% Glüh-

rückstand und Spuren — 0,016 $^0/_0$ — CaO bei 4,5864 $^0/_0$ N enthielt.

Ein Teil des Peptons (a) ist unter Einwirkung dialysierten Magensaftes ohne HCl-Zusatz plasteinisiert; der andere Teil (b) ist vorläufig mit 6 $^0/_0$ NaOH abgestumpft. Im ersten Falle äußerten sich die physikalischen Änderungen in einer Gelatinierung (analog dem P. 4 der Versuchsreihe Nr. 2); im zweiten Falle entstanden flockige Niederschläge, die anscheinend sich bei $CaCl_2$-Zusatz vergrößerten, wobei jedoch dieser Zusatz auf die chemische Umwandlung keinen Einfluß ausübte.

Nr. des Versuchs	Acidität: 30 ccm gegen Phenolphthalein erforderten $^n/_5$-KHO ccm	Konzentration des N $^0/_0$	Zugesetzt 9,6 $^0/_0$ $CaCl_2$ ccm	Physikalische Änderungen	Umwandlung bei Titration des $N(NH_2)$ nach Sörensen ccm
a) 1	48,3	4,5864	—	Gelatinierung	— 0,55
2	48,3	4,5864	0,5	do.	— 0,55
b) 1	18,5	2,6208	—	flockiger Niederschl.	— 0,45
2	18,5	2,6208	0,5	do.	— 0,40

Von Interesse ist das Ergebnis, daß in den Versuchen a) und b) sich nahezu dieselbe chemische Umwandlung ergab, obgleich im letzteren Falle (b) die Peptonkonzentration fast zweimal geringer als im ersten war.

Es ist nun die Frage, ob der genannte Umstand sich auf eine Begünstigung durch NaCl, das sich beim partiellen Neutralisieren der Salzsäure in der Peptonlösung durch Abstumpfen mit NaHO gebildet hat, zurückführen läßt. Werden die unter b) erhaltenen Resultate auf die N-Konzentration in Versuch a) bezogen, so erhalten wir rechnerisch bei b) einen größeren Regenerationseffekt als bei a); auch ergibt sich hierbei für b) eine bedeutend geringere Acidität als für a).

	N-Konzentration $^0/_0$	Acidität: 30 ccm gegen Phenolphthalein erforderten $^n/_5$-KHO ccm	Umwandlung bei Titration des $N(NH_2)$ nach Sörensen ccm
a)	4,5864	48,3	— 0,55
b)	[4,5864]	[32,3]	[— 0,83]

Werden jedoch die in der gegebenen Versuchsreihe bei einer Acidität von 48,3 ccm erhaltenen Regenerationsresultate mit analogen früheren Versuchen verglichen (s. die Haupttafel), so erweist sich, daß die Acidität von 48,3 auf 30 ccm Versuchsflüssigkeit in den Bereich jener übermäßigen Acidität fällt, bei der der Regenerationsprozeß schon im Erlahmen begriffen ist; offenbar sind also im gegebenen Falle die Regenerationsresultate in Versuch b) nicht etwa deshalb höher, weil hier die Anwesenheit einer gewissen NaCl-Menge eine Rolle spielte, sondern weil im gegebenen Falle die Reaktionsbedingung — die vorliegende Acidität — den Regenerationsprozeß günstiger beeinflußt als die höhere Acidität von 48,3 ccm.

Charakteristisch ist für die betrachteten Versuche unter anderem, daß ein in gewissen Grenzen gehaltener NaCl- bzw. $CaCl_2$-Zusatz zu den dialysierten Peptonlösungen keinen schädlichen Einfluß auf das aktive Ferment ausübt, und auch, daß in diesen Versuchen die Acidität (s. Haupttabelle) unverändert blieb. In allen Versuchen lag die Entscheidung darüber, welcher Regenerationseffekt eintrat, in der Konzentration des HCl-Zusatzes.

Es fragt sich nun, wie sich der Prozeß der Plasteinbildung ändert, wenn Salze hinzugesetzt werden, welche die Acidität bzw. die Konzentration der H-Ionen beeinflussen können; als ein solches Salz fand saures Kaliumphosphat — KH_2PO_4 — Verwendung.

In der Versuchsreihe Nr. 6 wurde eine Portion in stark saurer Lösung dialysierten Peptons mit 0,016 % Glührückstand und Spuren von Calciumsalzen der Plasteinbildung unter Einfluß von dialysiertem Magensaft und 1,5 bzw. 2,5 ccm n-HCl unterworfen; eine andere Portion wurde zuvor mit einer geringen Menge KH_2PO_4 (1 ccm 20 %iger Lösung auf 30 ccm Pepton) versetzt.

Wie aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist, steigert der Zusatz des Salzes sowohl die Acidität als auch die regenerative Wirkung, während die physikalischen äußeren Änderungen wenig voneinander differieren.

Nummer des Versuchs	Zugesetzt n-HCl ccm	Zugesetzt 20% KH_2PO_4 ccm	Beschaffenheit der Lösung	Acidität: 30 ccm gegen Phenolphthalein erfordern $^n/_5$-KHO ccm	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
1	1,5	—	starker Niederschlag	26,3	— 0,9
2	2,5	—	do.	27,8	— 1,0
3	—	1	do.	32,3	— 1,3

Beim Vergleich der erhaltenen Resultate mit den Resultaten der Versuchsreihe Nr. 4 (s. Haupttabelle), wobei zwecks besserer Übersichtlichkeit die Resultate der Versuchsreihe Nr. 6 auf die Konzentrationen der Versuchsreihe Nr. 4 umgerechnet werden, ergibt es sich, daß im gegebenen Falle KH_2PO_4 einen größeren Regenerationseffekt schon infolge der günstig geänderten Acidität der Lösung ergibt.

Nummer des Versuchs	N-Konzentration in 30 ccm %	Acidität gegen Phenolphthalein erfordert $^n/_5$-KHO ccm	Dauer der Erwärmung im Thermostaten Std.	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
4	4,607	38,55	40	— 2,0
6	[4,607]	[43,0]	16	[— 1,6]

Somit ändert, im Gegensatz zu den Zusätzen von NaCl und $CaCl_2$, ein Zusatz von KH_2PO_4 zum Pepton, das bei Anwesenheit einer größeren Menge HCl dialysiert ist, den Verlauf der Plasteinbildung aus dem Grunde, weil er die H-Ionenkonzentration der Versuchsflüssigkeit ändert.

Der nächste Versuch zeigt, daß man bei dem Plasteinisieren von Peptonen sogar die HCl durch KH_2PO_4 ersetzen kann (Versuchsreihe Nr. 7).

Das in sehr schwach saurer Lösung dialysierte Pepton wurde durch Hinzufügen von 15%iger NaOH deutlich alkalisch gemacht, dann nach Znsatz von KH_2PO_4-Lösung der Plasteinbildung unter Einfluß von Lab unterworfen. Die physikalischen Änderungen bestanden im Ausfallen eines Niederschlags und Bildung einer dickflüssigen Lösung.

Nummer des Versuchs	N-Konzentration in 80 ccm %	Zugesetzt 20%ige Lösung von KH_2PO_4 ccm	Acidität: 30 ccm erfordern gegen Phenolphthalein $^n/_5$-KHO ccm	Umwandlung bei Titration nach Sörensen ccm
1	4,7200	—	17,0	±0
2	4,7200	1,0	25,5	−0,40
3	4,7200	2,5	34,6	−0,60
4	4,7200	4,5	42,0	−0,55

Obgleich es nicht gelungen ist, im gegebenen Falle einen bedeutenderen Regenerationseffekt zu erzielen — wie die Haupttabelle zeigt, ist bei etwa gleicher Konzentration im Versuch Nr. 2 der Regenerationseffekt etwa 4 mal höher als im Versuch Nr. 7 —, so ist schon die Tatsache, daß die HCl durch das im tierischen Organismus eine große Rolle spielende saure Kaliumphosphat ersetzt werden kann, von großem physiologischen Interesse, insofern als sie zeigt, daß die Plasteinbildung aus den Spaltungsprodukten der Eiweißstoffe auch in Abwesenheit der sog. „freien" Salzsäure verlaufen kann.

Wir schreiten nun zum Vergleich der Plasteinisierungsresultate dialysierter Peptonlösungen unter Einwirkung dialysierter verdauender Lösungen mit den an undialysierten Peptonlösungen und undialysierten verdauenden Lösungen erhaltenen Effekten. Hierzu vergleichen wir die optimalen Werte in den vorliegenden Versuchen mit den optimalen Umwandlungen in meiner vorhergehenden Arbeit[1]). Wie aus der Tabelle der letzteren ersichtlich (l. c., S. 165 und 166), betrug dort die optimale Umwandlung der $N(NH_2)$ undialysierter Peptone unter Einfluß undialysierter Lablösungen 0,73% des Gesamtstickstoffs. Bei entsprechender Umrechnung der maximalen Umwandlung zu $N(NH_2)$ dialysierter Peptone unter Einwirkung dialysierten Labs erhalten wir 0,70% des Gesamtstickstoffs (Versuchsreihe Nr. 2), und bei Einwirkung von dialysiertem Magensaft sogar 0,9% des Gesamtstickstoffs (Versuchsreihe Nr. 6). Die angeführten Zahlen zeigen, daß, im Gegensatz zu der Ansicht älterer Autoren, eine möglichst weitgehende Entfernung der Salze

[1]) P. Glagolew, l. c.

keinerlei Wirkung auf die Plasteinbildung ausübt, sofern letztere als ein bestimmter chemischer Prozeß betrachtet wird.

Im verwickelten Plasteinbildungsprozeß haben wir zwei Vorgänge auseinanderzuhalten: 1. die chemische Umwandlung und 2. die Fällung. Sowohl dieser als jener verläuft je nach den Bedingungen verschieden.

Aus dem Dargelegten lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Der Rückbildungsgrad dialysierter Produkte der hydrolytischen Spaltung von Eiweißstoffen unter Einwirkung dialysierter Fermente, gemessen durch Titration der NH_2-Gruppen nach Sörensen, ist durchaus nicht geringer als der Rückbildungsgrad von Peptonen mit Salzgehalt, die der Einwirkung undialysierter verdauender Flüssigkeiten ausgesetzt sind.

2. Zusätze von Neutralsalzen — insbesondere NaCl — begünstigen ein Ausfallen von Niederschlägen bei der Plasteinbildung.

3. Zusätze von NaCl (bis 1,84 $^0/_0$) und $CaCl_2$ (bis 0,6 $^0/_0$) üben bei verschiedener Acidität keinen merklichen Einfluß auf den Zahlenwert der bei der Plasteinbildung resultierenden Verschiebung der nach Sörensen zu titrierenden NH_2-Gruppen aus.

4. Zwischen der Menge des bei der Plasteinbildung ausfallenden Niederschlags und der Umwandlungszahl von NH_2 besteht kein bestimmtes Verhältnis.

5. Die Plasteinbildung von Peptonen, die KH_2PO_4 enthalten, kann auch ohne HCl-Zusatz vor sich gehen.

Studien über die Einwirkung von Maltase auf Stärke.

Von

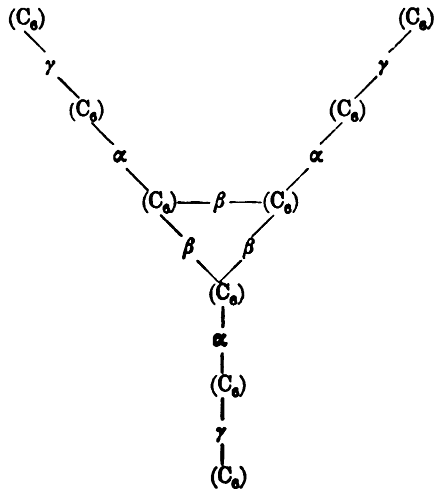
Zenon Wierzchowski.

(Aus dem mykologischen Institut der technischen Hochschule in Lemberg.)

(Eingegangen am 9. September 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

In seinen Abhandlungen über die Konstitution der Stärke[1]) kam Syniewski zu dem Schlusse, daß die Stärkemolekel aus vier Amylogenresten besteht, die wiederum aus je neun nach folgendem Schema miteinander verbundenen Glucoseresten zusammengesetzt sind:



Das Symbol (C_6) bedeutet hier je einen Glucoserest, die durch die Buchstaben α, β und γ bezeichneten Bindungsstriche stellen die zwischen diesen Glucoseresten bestehenden drei verschiedenen Arten von Carbonylbindungen vor.

[1]) Liebigs Annalen **324**, 212.

Die Diastase des Gerstenmalzes enthält nun Enzyme, die eine derartige Hydrolyse der Stärkemolekel auslösen, daß vor allem die α-Bindungen, aber nebenher, wenn auch langsam, die β-Bindungen gespalten werden. Durch das Nebeneinanderlaufen dieser beiden Prozesse erklärt sich leicht die Entstehung aller bis jetzt bekannt gewordenen sog. Verzuckerungsprodukte der Stärke.

Aus der Syniewskischen Vorstellung über den inneren Bau der Stärkemolekel ist leicht zu schließen, daß man bei der Einwirkung eines derartigen Enzyms auf dieselbe, das ausschließlich die γ-Bindungen spalten würde, neben Glucose auch ein überaus interessantes Dextrin erhalten müßte. Dasselbe müßte aus Resten von nachfolgender Konstitution

(C_6) (C_6)
α α
(C_6) — β — (C_6)
β β
(C_6)
α
(C_6)

zusammengesetzt sein, also bloß α- und β-Bindungen enthalten, und deshalb voraussichtlich bei weiterer Hydrolyse durch die beiden Enzyme der Gerstenmalzdiastase sich so verhalten, daß durch α-Hydrolyse nicht Maltose sondern Glucose, und durch β-Hydrolyse eine von Maltose wohl verschiedene Hexobiose entstehen dürfte.

Eine solche Ergebnisse liefernde γ-Hydrolyse der Stärke würde uns nicht nur neue und interessante Körper kennen lernen lassen, sondern die Syniewskische Vorstellung über die Konstitution der Stärke auch weiter stützen.

Von diesem Gesichtspunkte ausgehend unternahm ich die Lösung des obgenannten Problems. Ich gelangte zwar nicht zu dem mir gesteckten Ziele aus Gründen, die aus dem Weiteren zu ersehen sein werden, lernte aber hierbei eine neue, überaus interessante Zersetzung der Stärke durch die sog. Maltase kennen.

γ-Bindungen benennt Syniewski jene Carbonylbindungen in der Stärkemolekel, die die Glucosereste in der darin stekkenden Maltose zusammenhalten. Es lag deshalb auf der Hand, ein γ-hydrolytisches Enzym in der Maltase zu vermuten, die ja doch die Hydrolyse der Maltose, also die Lösung von γ-Bindungen in derselben katalysiert.

Die Maltase kennen wir seit den Veröffentlichungen Cuisiniers[1]) und Gédulds[2]) im Jahre 1886. Cuisinier nannte sie Glykase. Er fand dieselbe in Maiskörnern, sowie auch in Körnern anderer Getreidearten. Mit diesem Enzym befaßten sich in den nächsten Jahren auch Morris[3]) und Beyerinck[4]). Es wurde festgestellt, daß unter dem Einflusse dieses Enzyms die Maltosemolekel in zwei Moleküle Glucose zerfällt, sowie auch, daß Stärke teilweise, wenn auch sehr langsam, von ihm angegriffen wird, wobei außer Dextrinen und Maltose auch Glucose entsteht.

Sowohl die genannten Forscher als auch viele andere, die sich später mit diesem Enzym beschäftigten, stellten ihre Versuche an, teils um die Natur des Enzyms näher kennen zu lernen, teils in Verfolgung rein physiologischer Probleme; Fragen über die Konstitution der Stärkemolekel auf Grund der Zersetzung der letzteren mit Hilfe der Maltase zu lösen, hat meines Wissens bisher niemand versucht.

Darstellung des Maltasepräparates.

Wirksame Präparate von Maltase stellten Géduld sowie Beyerinck aus Maismehlauszügen durch Fällung mittels Alkohol dar.

Meine Versuche, um Maltasepräparate aus Mais nach Beyerincks Methode darzustellen, mißlangen. Ich habe zwar verzuckernde Präparate erhalten, sie enthielten aber vornehmlich Diastase, ihr Maltasegehalt war sehr gering, wie ich mich durch Ausführung von Verzuckerungsversuchen überzeugte.

Die angewandten Maiskörner enthielten größere Mengen von Maltase; ein aus der Aleuronschicht derselben hergestelltes feines Mehl hydrolysierte Maltose sehr energisch. Wasserauszüge des Mehls wirkten bedeutend schwächer; aus denselben hergestellte Trockenpräparate hydrolysierten Maltose fast nur in Spuren, das nach dem Extrahieren rückständige Mehl verlor seine enzymatische Kraft nicht im geringsten.

Die Ursache dieser Erscheinungen ist darin zu suchen, daß die im Maismehl vorhandene Maltase äußerst schwach in Wasser löslich ist, und daß das gelöste Enzym dem Fällungsalkohol gegenüber ungemein empfindlich ist.

---

[1]) La sucrerie indig. J. 27, 226.

[2]) Wochenschr. f. Brauerei 8, 545.

[3]) Wochenschr. f. Brauerei 8, 365.

[4]) Centralbl. f. Bakt. 1 (2), 221.

Feste, nach Beyerincks Methode darzustellende Präparate von bemerkenswerter Wirksamkeit standen mir also nicht zu Gebote, es blieb mir deshalb nichts anderes übrig, als zu meinen Versuchen wässerige Maismehlauszüge oder das Maismehl selbst anzuwenden.

Meine ersten orientierenden Versuche über die Einwirkung beider obgenannten maltasehaltigen Agenzien auf Stärke in wässeriger Lösung zeigten aber bald, daß ich es in denselben nicht mit einem einzigen Enzym, nämlich der Maltase, zu tun hatte, im Gegenteil zeigten sie, daß hier auch eine mit der aus dem Gerstenmalz wohl identische Diastase vorhanden und wirksam sei.

Die Verzuckerung der Stärke mittels wässerigen Maismehlauszugs verlief derart, daß man von zwei Stadien derselben reden konnte. Das erste verläuft rasch, bis aus der Stärke etwa 40 $^0/_0$ Zucker, als Glucose berechnet, entstanden sind. Das nachfolgende verläuft dann aber äußerst langsam; das entstandene Dextrin widersteht der weiteren Hydrolyse bei den eingehaltenen Bedingungen ziemlich zähe. Die nähere Untersuchung der Verzuckerungsprodukte zeigte aber, daß der im ersten Stadium entstandene Zucker hauptsächlich Maltose ist, und bloß geringe Mengen von Glucose wohl aus der primär entstandenen Maltose gebildet werden. Das Verhältnis der scheinbaren, nach der Allihnschen Methode bestimmten Glucose zur wirklichen, nach Lintner-Kröber ermittelten Menge dieses Zuckers war 9 : 1.

In beträchtlicher Menge entsteht Glucose nach einer gewissen Zeit erst während des zweiten Stadiums des Verzuckerungsverlaufs, und zwar im Verhältnis 3 : 1, gewiß auf Kosten der vorher entstandenen Maltose. Maismehlauszug war also zu meinem Zwecke unbrauchbar, er wirkte nicht ausschließlich γ-hydrolytisch.

Aber auch das rohe Maismehl selbst wirkte nicht rein γ-hydrolytisch, was aus nachstehendem Versuch zu ersehen ist.

Eine durch 10 bis 12 stündiges Erhitzen von 3 bis 5 $^0/_0$ igem Stärkekleister im Dampftopfe bei 138 bis 140^0 erhaltene Stärkelösung wurde als Verzuckerungssubstrat benutzt. Die Lösung hatte einen Gehalt von 0,4129 g Stärke (als Amylogen berechnet) in 10 ccm.

490 ccm der Lösung wurden mit 10 ccm einer 4%igen Formaldehydlösung versetzt und dazu 25 g feinstgemahlenen Maismehles gegeben, worauf diese Mischung wohl verschlossen in einem rotierenden Schüttelapparat während des ganzen Verzuckerungsverlaufs bei 15° gehalten wurde.

Ebenso wurden 490 ccm reinen Wassers mit 10 ccm obgenannter Formaldehydlösung und 25 g Maismehl versetzt und gleichzeitig geschüttelt. In bestimmten Zeitabschnitten wurde in aliquoten Teilen beider Lösungen das Reduktionsvermögen und aus der Differenz derselben die Menge der scheinbaren Glucose bestimmt. Die wirklich entstandene Glucosemenge wurde nach der Lintner-Kröberschen Osazonmethode ermittelt. Die derart erhaltenen Daten sind nachfolgend zusammengestellt:

Nr.	Versuchs-dauer	Probe-menge	Erhalten CuO	Hieraus berechnet Glucose		Probe-menge	Osazon-menge	Hieraus Glucose-menge	Farbe mit Jodlösung
		ccm	mg	mg	%	ccm	mg	mg	
1	19h 00′	10	90,0	36,75	8,90	—	—	—	violettblau
2	25h 00′	10	110,2	44,88	10,86	—	—	—	"
3	31h 45′	10	132,2	53,78	13,02	10	24,6	27,55	violett
4	49h 00′	10	192,6	78,49	19,00	10	40,3	45,14	rot
5	55h 30′	10	209,4	85,43	20,70	10	47,8	52,84	—
6	69h 00′	10	262,6	107,74	26,09	20	118,0	132,16	braunrot
7	80h 00′	10	301,6	124,34	30,10	—	—	—	—
8	97h 00′	10	350,2	145,33	35,20	—	—	—	—
9	145h 00′	10	481,7	204,10	49,40	—	—	—	—
10	173h 00′	5	269,5	110,70	53,60	10	136,3	163,56	—
11	409h 30′	5	413,9	173,41	84,00	5	160,0	154,00	—

Im ersten Stadium der Verzuckerung entstehen Glucose und Maltose, und die Geschwindigkeit der Verzuckerung durch Diastase ist größer als die durch Maltase. Mit der Zeit nimmt sie jedoch ab, und wenn das Färbungsvermögen der Produkte mittels Jodlösung verschwunden ist, tritt im Verlaufe der diastatischen Hydrolysen ein Stillstand ein. Jetzt haben wir es im zweiten Stadium der ganzen Verzuckerung bloß mit der Wirkung der Maltase auf gebildete Maltose und die entstandenen Dextrine zu tun.

Die Vermehrung der scheinbaren Glucosemenge stimmt mit dem ermittelten Zuwachs der tatsächlich entstandenen Glucose sehr gut überein (242,06 mg ... 241,9 mg).

Um ein rein γ-hydrolytisches Präparat zu haben, mußte das Maismehl von Diastase befreit werden. Nachdem nun die Maltase des Maismehles ein in Wasser schwerlöslicher Körper ist im Gegensatz zur Diastase, so wurde das Maismehl, um es von Diastase zu befreien, einfach mit Wasser extrahiert. Nach mehrmaliger Wiederholung der Extraktion gelang dies vollkommen. Das ausgelaugte Mehl wirkte auf Maltose viel intensiver als das rohe, auf Stärke jedoch bedeutend schwächer, und diese letztere Verzuckerung zeigte auch einen vollkommen anderen Verlauf. Ein derartig vorbereitetes Mehl verzuckerte Stärkelösungen so, daß das Färbungsvermögen der verzuckernden Lösung mit Jod während des ganzen Verlaufs der Einwirkung fast unverändert blieb; es konnte also von Vorhandensein von Diastase keine Rede mehr sein, und in jedem Stadium der Verzuckerung stimmte die scheinbare mit der wirklichen Glucosemenge vollkommen überein, was ein Beweis war, daß Maltose im Verzuckerungsgemisch nicht vorhanden war. Das so ausgelaugte Maismehl stellte also ein für meine Zwecke genügendes Präparat dar, da es bloß Maltase, also ein bloß γ-hydrolytisches Agens enthielt.

Einwirkung der Maismaltase auf Stärke.

Angewendet wurde eine 3%ige Stärkelösung, deren 500 ccm mit 10 ccm einer 4%igen Formaldehydlösung versetzt waren.

Hierzu wurden 40 g gereinigtes Maismehl gegeben und im rotierenden Schüttelapparat in einer wohlverschlossenen Flasche bei der Temperatur von 42° bis 45° (im Thermostaten) der Verzuckerung überlassen. Die gebildete Zuckermenge wurde sowohl mittels Allihnscher Lösung als auch aus der Osazonbildung nach Lintner und Kröber ermittelt. Die letztere Methode war etwas modifiziert, da ich nach eigenen Bestimmungen an empirisch hergestellten Dextrin- und Glucoselösungen für verschiedene Konzentrationen des Zuckers und der Stärke die drei Faktoren 1,240, 1,115 und 1,033 ermittelt hatte.

Behufs Bestimmung des Jodfärbungsvermögens wurden in den betreffenden Zeitpunkten 3 ccm des Filtrats aufgekocht, mit gleichem Volumen Wasser verdünnt und vorläufig beiseite gestellt. Nach der Vollendung der Versuchsreihe wurden alle

Proben gleichzeitig mit je 5 Tropfen derselben Jodlösung versetzt und die Nuance der Färbung beobachtet.

Der Amylogengehalt in 10 ccm der verzuckernden Lösung betrug 0,3108 g. Die in 10 ccm der Lösung vorhandene Formaldehydmenge reduzierte 0,0253 g CuO. Dies wurde in Rechnung gezogen.

Die nach oben angegebener Art ermittelten Resultate sind in nachfolgender Tabelle zusammengestellt:

Nr. des Versuchs	Verzuckerungsdauer	Erhalten CuO aus 10 ccm	Hieraus berechnete Glucose		Osazonmenge aus 20 ccm	Hieraus Glucosemenge	Farbe mit Jodlösung
	Std.	mg	mg	%	mg	mg	
1	2	80,9	39,11	10,64	—	—	blau mit violetter Nuance
2	8	138,0	56,10	18,05	84,20	104,41	do.
3	21	213,5	87,15	20,04	159,00	177,30	do. } Die Intensität der Farbe war immer schwächer
4	48	295,3	121,62	39,13	—	—	do.
5	72	343,7	142,54	45,86	—	—	do.
6	96	378,7	157,88	50,80	—	—	do.
7	168	453,3	191,02	61,46	—	—	do.

Die aus obigen Zahlen konstruierte, den Verzuckerungsverlauf darstellende Kurve hat nachstehende Gestalt:

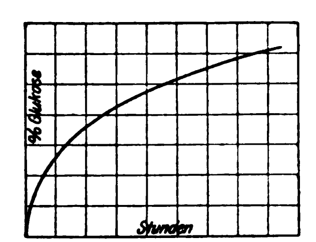


Fig. 1.

Der oben angeführte, sowie andere mehrmals wiederholte Versuche stellten nachfolgendes fest: Glucose entsteht gleich zu Anfang der Einwirkung von Maismehlenzym auf Stärke.

Das Erscheinen von Maltose in geringen Mengen muß der Einwirkung von nicht vollkommen entfernter Diastase zugeschrieben werden.

Das Jodfärbungsvermögen ändert sich während des ganzen Verzuckerungsverlaufes fast gar nicht. Das Auftreten der violetten Nuance zu Ende des Prozesses ist auf dieselbe Ursache wie das Erscheinen der Maltose zurückzuführen.

Die Verzuckerungskurve zeigt keine solche Krümmung, daß zwei Stadien des Verzuckerungsverlaufes anzunehmen wären (nach Erscheinen von etwa 36 bis 40% Glucose), die sich wohl

offenbaren müßten, wenn die Syniewskische Voraussetzung, daß durch Maltase bloß die γ-Bindungen in der Stärkemolekel gesprengt würden, zuträfe. Im Gegenteil muß aus der Tatsache, daß der Verzuckerungsverlauf auch bei der Bildung von 50 bis 60% Glucose an Intensität verhältnismäßig wenig einbüßt, gefolgert werden, daß bei diesem Prozesse nicht nur die γ-, sondern auch die α- und β-Bindungen gelöst werden. Eine solche Zersetzung der Stärkemolekel, daß gleichzeitig alle Arten von Bindungen in derselben gelöst werden, kann als Verzuckerungsprodukt bloß einen einzigen Körper, nämlich die Glucose, geben. Das bis fast zu Ende des Verzuckerungsverlaufes vorhandene Vermögen der Lösung, sich mit Jod blau zu färben, kann dann nur von noch nicht angegriffener Stärke herrühren. — Die Abscheidung und genaue Untersuchung der Verzuckerungsprodukte sollte in dieser Hinsicht Aufklärung geben.

Orientierende Versuche ergaben, daß die Geschwindigkeit der Verzuckerung unter anderen auch von dem Verflüssigungsgrade der Stärkelösung abhängt, sowie daß die günstigste Reaktion schwach alkalisch (mit Methylorange) ist.

Die Stärkelösung wurde bis zum Erscheinen von 40% Glucose verzuckert. Aus der filtrierten und aufgekochten Lösung wurden die nicht verzuckerten Anteile (also die erhofften Dextrine) durch Alkohol ausgefällt. Das alkoholische Filtrat wurde im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz eingedampft. Dieser Sirup krystallisierte nach Einimpfen von wenig Glucosekryställchen sehr leicht. Das abgeschiedene und einmal umkrystallisierte Produkt war, wie festgestellt wurde, ganz reine Glucose. Die Ausbeute war beinahe quantitativ.

Das abgeschiedene Dextrin wurde im Wasser gelöst und mittels entsprechender Alkoholfällung in Fraktionen zerlegt. Die meisten Fraktionen erwiesen sich als homogen und untereinander gleich; es wurde nur eine Fraktion erhalten in der Menge von einigen Prozenten, die von den übrigen verschieden war.

Die Hauptfraktionen hatten nachfolgende Eigenschaften:

Das spezifische Drehungsvermögen betrug:

$$[\alpha]_D = + 192 - 196^\circ.$$

Färbungsvermögen mit Jod blau.

Sehr große Neigung zur Bildung von Reversionsprodukten.

Ausfallen aus der wässerigen Lösung bei ziemlich geringer Zugabe von Alkohol.

Diese Eigenschaften bekräftigten noch mehr die Annahme, daß dieser Körper nichts anderes als lösliche Stärke (Syniewskis Amylodextrin) ist. Um mir in dieser Hinsicht vollkommene Gewißheit zu verschaffen, ließ ich einerseits dieses Dextrin, andererseits unter gleichen Bedingungen eine Stärkelösung vergleichsweise mittels Maismaltase sowie mittels Gerstenauszugs (α-Hydrolyse) und auf 78° erwärmten Malzauszugs (β-Hydrolyse) verzuckern. In allen Fällen verlief die Verzuckerung sowohl des erhaltenen Dextrins als auch der löslichen Stärke vollkommen gleich, also durch Gersten- und Gerstenmalzdiastase nicht so, wie sie wohl hätte verlaufen müssen, wenn das erhaltene Dextrin durch Spaltung von ausschließlich γ-Bindungen in der Stärkemolekel entstanden wäre. Es gelang mir nicht, die geringsten Mengen Glucose in den durch Gersten- und Gerstenmalzdiastase erhaltenen Verzuckerungsprodukten nachzuweisen. Besonders belehrend war die vergleichende Verzuckerung beider Körper durch Maismaltase.

Vergleichende Verzuckerung des Amylodextrins und des aus Stärke erhaltenen Restdextrins durch Maismaltase.

200 ccm der beiden je ca. 1%igen Dextrinlösungen wurden mit je 1 ccm einer 4%igen Formaldehydlösung und je 20 g Maismehl versetzt und bei 42 bis 45° unter beständiger Mischung im Schüttelapparat zur Verzuckerung hingestellt.

Der Zucker wurde durch Reduktion von alkalischer Kupfersulfatlösung nach der Bertrandschen Methode[1]) bestimmt. Einmal wurde eine Kontrollbestimmung nach der Osazonmethode gemacht.

Die Amylodextrinlösung enthielt 111,28 mg in 10 ccm.

Die Restdextrinlösung enthielt 91,48 mg in 10 ccm.

Nr. des Versuchs	Verzuckerungsdauer Std.	Erhalten Cu aus 10 ccm mg	Hieraus berechnete Glucose mg	Hieraus berechnete Glucose %	Farbe mit Jodlösung
1D	6	19,96	9,78	10,69	violettblau
1S		22,50	11,05	10,08	blau
2D	24	44,76	22,46	24,55	violettblau
2S		41,57	20,78	19,00	do.

[1]) Euler, Allgemeine Chemie der Enzyme, S. 214.

Nr. des Versuchs	Verzuckerungsdauer Std.	Erhalten Cu aus 10 ccm mg	Hieraus berechnete Glucose mg	Hieraus berechnete Glucose %	Farbe mit Jodlösung
3 D	36	60,30	30,66	33,51	—
3 S		50,11	25,27	23,05	—
4 D	81	95,70	50,12	57,70	blauviolett
4 S		67,81	37,72	31,70	violettblau
5 D	108	112,78	60,00	65,50	—
5 S		75,22	38,76	35,30	—
6 D	150	—	—	—	—
6 S		93,54	49,00	44,70	violettblau
7 D	246	141,40	77,12	84,30	blauviolett
7 S		108,10	57,30	52,20	violettblau

Mittels der Osazonmethode wurden nach 24 Stunden ermittelt: in 10 ccm der Amylodextrinlösung 21,5 mg Glucose, in 10 ccm der Restdextrinlösung 20,04 mg Glucose.

Die nach den Zahlen obiger Tabelle gezeichneten Kurven haben folgende Gestalt:

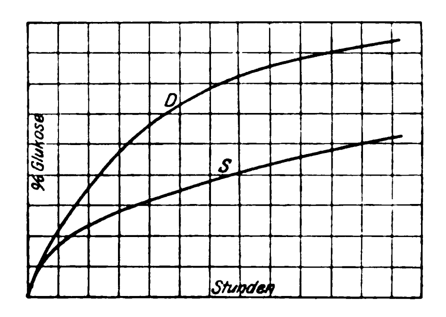


Fig. 2.

Es ist aus obigem zu ersehen, daß die Umwandlung des Restdextrins intensiver stattfand als die des Amylodextrins, aber der Gesamtverlauf beider Verzuckerungsprozesse war beinahe identisch, was die beiden Kurven klar zeigen.

Das anfängliche Jodfärbungsvermögen der Restdextrinlösung blieb beinahe bis zu Ende des Versuchs fast unverändert. Der Abbau ist, wenn 85 % Glucose entstanden sind, wohl als sehr weit fortgeschritten anzusehen, und trotzdem färbte sich die Lösung mit Jod stark blauviolett!

Aus der identisch, wenn auch mit verschiedener Geschwindigkeit verlaufenden Verzuckerung beider Dextrine ist mit Bestimmtheit zu schließen, daß sie identische Körper vorstellen.

Das bei der Verzuckerung von löslicher Stärke (Amylodextrin) mittels Maismaltase in den einzelnen Stadien zurückbleibende Restdextrin ist also nichts anderes als ein noch nicht in Reaktion getretener Anteil der ursprünglichen Substanz, also der löslichen Stärke.

Schlußergebnisse.

1. Die Verzuckerung der Stärke durch Maismaltase verläuft derart, daß in jedem Stadium derselben ausschließlich Glucose als Verzuckerungsprodukt neben noch unveränderter löslicher Stärke in der Lösung vorhanden ist.

2. Die geringe Menge von mit Jod sich violett oder rot färbenden Dextrinen, die bei diesem Prozeß erscheint, entsteht durch Vermittlung von Diastase.

3. Die Maismaltase spaltet alle drei Arten von Carbonylbindungen in der Stärkemolekel mit gleicher Intensität, da keine Dextrine als Zwischenprodukte gebildet werden.

4. Maismaltase ist also par excellence ein amylolytisches Enzym, das die Stärke vollständig bis zur Glucose abbaut. Der Name Amylase gebührt also ihm ausschließlich.

Der Einfluß der Beschattung des Tabaks auf verschiedene Bestandteile der Blätter.

Von

A. Stutzer und S. Goy.

(Aus dem Agrikultur-chemischen Institut der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 12. September 1913.)

Im Jahre 1912 machte der zuerst genannte Berichterstatter eine Studienreise durch die Vereinigten Staaten Nordamerikas und lernte bei dieser Gelegenheit eine eigenartige Kultur des Tabaks kennen, die ihm bisher aus eigener Anschauung nicht bekannt war.

Seit dem Jahre 1900 ist dort allmählich das Verfahren eingeführt, den Tabak während der ganzen Vegetationsperiode unter einem Schattendach wachsen zu lassen. Auf dem Felde befindet sich eine große Anzahl von hölzernen Pfählen, die untereinander durch starke Eisendrähte verbunden sind. Dieses Gerüst wird mit einem starken Gewebe überspannt, das in Deutschland den Namen „grober Stramin" führt. Unter dem Gewebe ist das Licht gedämpft, es bleibt die Feuchtigkeit der Luft und der Tau längere Zeit erhalten, der Tabak befindet sich in einer feuchtwarmen Umgebung, und die Folge davon ist, daß die Blätter zart bleiben; die Zellwände verholzen nicht in dem Grade, als wenn der Tabak das volle Sonnenlicht in trocknerer Umgebung erhält. Der Tabak zeigt nach dem Fermentieren eine gute Glimmfähigkeit und hat eine helle Farbe.

Der unter dem Schattendach kultivierte Tabak hat einen viel höheren Handelspreis als der im Freien gewachsene. Der Berichterstatter sah Plantagen, in denen 30 bis 45 ha unter einem einzigen, zusammenhängenden Schattendach sich befanden.

Diese in Amerika gemachten Beobachtungen gaben Anlaß, daß wir im Versuchsgarten des agrikultur-chemischen Instituts zu Königsberg im Sommer 1913 mit dem Einfluß der Beschattung des Tabaks auf die Bildung von Nicotin und auf einige andere Bestandteile der Tabakpflanze uns beschäftigten.

Über den Einfluß der Beschattung auf die Bildung von Nicotin liegen ältere Beobachtungen von Adolf Mayer vor (mitgeteilt in der Zeitschrift „Die landwirtschaftl. Versuchsstationen“ 38, 459, 1891). Mayer fand, daß der Nicotingehalt der Blätter bei der Beschattung erheblich abnimmt. Dies wurde von ihm sowohl bei Pflanzen, die, im freien Lande wachsend, teils dem vollen Sonnenlicht ausgesetzt und teils beschattet wurden, nachgewiesen, er konnte aber auch bei einzelnen Blättern durch Beschattung den Nicotingehalt erheblich vermindern. Einzelne Blätter wurden wochenlang in Stanniol eingewickelt; diese hatten 2,2 % Nicotin, und die dem vollen Sonnenlichte ausgesetzten 4,4 %.

Demgemäß mußten wir annehmen, daß auch bei unseren anzustellenden Versuchen erhebliche Schwankungen sich ergeben würden. Da es uns darauf ankam, die Versuche bei Darreichung des Optimums an Wasser und an Nährstoffen auszuführen, ließen wir den Tabak nicht im freien Lande wachsen, sondern in Vegetationsgefäßen aus gebranntem glasiertem Ton; die Gefäße fassen, je nach dem spezifischen Gewicht des betreffenden Bodens, 10 bis 15 kg von lufttrockenem Boden, und hat letzterer eine Oberfläche von rund 700 qcm. Den Boden des Gefäßes bildet eine gelochte Platte aus glasiertem Ton, die herausgenommen werden kann. Das Gefäß steht mit kurzen Füßen in einem Untersatz, es findet eine hinreichende Durchlüftung des Bodens statt, und kann der im Untersatz etwa angesammelte Überschuß an Wasser (mit darin vorhandenen Nährstoffen) wieder zur Befeuchtung der oberen Bodenschicht benutzt werden. Seit 10 Jahren bedienen wir uns in unserem Institute derartiger Vegetationsgefäße mit bestem Erfolge.

Der verwendete Boden bestand aus einem Gemenge gleicher Raumteile eines guten Lehmbodens, Sand und gesiebtem Torfmull, welche Mischung nach unseren Erfahrungen dem Tabak besonders zusagt. Gedüngt wurde mit 0,5 g Phosphorsäure (Superphosphat), 2,0 g Kali (als Kaliumsulfat gegeben), 1 g Mag-

nesiumsulfat und 1 g Stickstoff in Form von salpetersaurem Harnstoff. Der letztere wurde während des Wachstums in mehreren Teilbeträgen gegeben. Die Düngstoffe waren sehr reichlich verwendet. In jedes Gefäß wurden zunächst 3 Tabakpflanzen eingesetzt, nach Verlauf von 2 Wochen 2 Pflanzen entfernt und die kräftigste zum Versuch benutzt. Nach dem Versuchsplan sollten je 8 Gefäße mäßig und andere sehr stark beschattet werden. Ein Gipfeln oder Geizen fand nicht statt. Außerdem erhielten 16 Pflanzen volles Sonnenlicht. Hiervon sind 8 Pflanzen gegipfelt und gegeizt, 8 nicht.

Die Pflanzen wurden, wenn es nicht regnete, täglich begossen; es ist ihnen ein Optimum von Wasser dargeboten, stauende Nässe im Untergrunde war bei der eigenartigen Konstruktion der Vegetationsgefäße nicht vorhanden. Sie entwickelten sich nach der starken und guten Düngung außerordentlich üppig. Beiläufig sei bemerkt, daß der salpetersaure Harnstoff in neuester Zeit fabrikmäßig in der Weise hergestellt wird, daß man den Stickstoff der Luft als Ausgangsmaterial benutzt, nach Methoden, die zum Teil an die Habersche Gewinnung von Ammoniak aus der Luft anschließen. Der salpetersaure Harnstoff ist nach unseren Erfahrungen das beste Material, das für die Ernährung des Tabaks mit Stickstoff dienen kann.

Die Beschattung des Tabaks fand bei unseren Versuchen in der Weise statt, daß über ein Gerüst von Holz ein dünnes weißes Gewebe gespannt war (hier unter der Bezeichnung „Kongreßstoff“ gekauft). Je 8 Pflanzen befanden sich unter dem Gewebe. Bei 8 anderen Pflanzen wurde am 26. Juni die Beschattung wesentlich verstärkt, indem über das bisher benutzte Gewebe ein viel dichterer Stoff gehängt wurde. Die Beschattung war hier so stark, daß die Blätter eine bleiche Farbe erhielten. Die schwach beschatteten Blätter waren nur wenig heller als die dem vollen Sonnenlicht ausgesetzten.

Am 1. August sind von allen Pflanzen die vier unteren Blätter entnommen, auf Fäden gezogen, im Trockenofen auf ungefähr 70° erwärmt, um das Protoplasma zu töten, und dann wurden sie an der Luft getrocknet.

Die Hälfte der nicht beschatteten Pflanzen ist am 1. August gegipfelt und 14 Tage später gegeizt. Die Ernte der übrigen Blätter fand statt: bei den stark beschatteten Pflanzen am

23. August, bei den schwach beschatteten am 25. und bei den belichteten am 30. August. Die Trocknung geschah wie soeben angegeben.

Bei der Ernte haben wir nur die gebrauchsfähigen größeren Blätter gesammelt, also Stengel mit Blüte und Geiztriebe unbeachtet gelassen. An Blättern, bezogen auf 100 g Trockensubstanz, wurden von je 8 Pflanzen geerntet:

1. Nicht beschattet,	nicht gegipfelt, nicht gegeizt	.	320 g
2. „ „	gegipfelt und gegeizt	. . .	344 g
3. Leicht „	nicht gegipfelt, nicht gegeizt	.	236 g
4. Sehr stark „	„ „ „ „	.	144 g

Man erkennt den sehr starken Einfluß des Vegetationsfaktors Licht. Setzt man die geerntete Menge gebrauchsfähiger Blätter, auf Trockensubstanz bezogen, bei Versuch 1 gleich 100, so sind geerntet bei Versuch 3 (leichte Beschattung) gleich 73 und bei Versuch 4 (sehr starke Beschattung) gleich 45. Bei Beschränkung des Zutritts von Licht war eine geringere Menge von organischer Substanz gebildet. Die Beschattung, die wir als „leicht“ bezeichnen, war etwas stärker, als in den großen nordamerikanischen Tabakplantagen üblich. Wir wählten eine etwas stärkere Beschattung, um den Einfluß des Lichtes auf gewisse Bestandteile der Tabakblätter schärfer hervortreten zu lassen.

Um Anhaltspunkte für die Lichtmengen zu gewinnen, die den Pflanzen bei der Beschattung zur Verfügung standen, wurde mit Hilfe von lichtempfindlichen Papier — Effwee-Expometern — die relative Helligkeit bestimmt, indem die Zeit ermittelt ist, in welcher das Licht dem Papier einen bestimmten blauen Farbenton gab. Wurde bei vollem Tageslicht und Sonnenschein dieser Farbenton außerhalb der beschatteten Räume in 2 Sekunden erreicht, so waren im leicht beschatteten Raum dazu 3 Sekunden nötig, und im sehr stark beschatteten 35 Sekunden. Es sind also recht große Unterschiede vorhanden gewesen.

Die Temperatur in dem leicht beschatteten Raum war bei Sonnenschein meist um 2 bis 3^0 höher als im Freien. Im stark beschatteten war die Temperatur meist etwas niedriger als im Freien, auch hier handelte es sich um Differenzen von 2 bis 3^0.

Die chemische Untersuchung der Blätter erstreckte sich auf den Gehalt an Nicotin, Gesamtstickstoff, Stickstoff in Form von Ammoniak, Asche und Kali.

Die angewendeten Methoden der chemischen Untersuchung.

Die Blätter wurden bei 70 bis 80° getrocknet, dann gemahlen, die gemahlenen Blätter $^1/_2$ Stunde lang im Wassertrockenschrank bei 99 bis 100° getrocknet und in Exsiccatoren aufbewahrt. Die Bestimmung der gesamten Menge des Stickstoffs geschah nach Methode Jodlbauer, diejenige des Ammoniaks durch Destillation eines Gemisches von 10 g Tabak mit Wasser und gebrannter Magnesia. Die Veraschung des Tabaks fand im Muffelofen statt, nach dem Wägen der Asche wurde diese mit 10%iger Salzsäure übergossen und im Wasserbade 10 Minuten lang erwärmt. Das Unlösliche ist durch ein aschefreies Filter von dem Gelösten getrennt, ersteres mit Wasser ausgewaschen, der Rückstand getrocknet, verascht und als „Sand“ in Anrechnung gebracht.

Zur Bestimmung der Kohlensäure in der Asche diente eine neue Menge von Asche, diese ist in einem geeigneten Gefäße mit einer bestimmten Menge von $^n/_5$-Schwefelsäure übergossen, erwärmt und die überschüssige Säure durch $^n/_5$-Lauge zurücktitriert. Reinasche wurde berechnet aus der gefundenen Menge der Asche nach Abzug von CO_2 und Sand. Die Bestimmung des Kalis geschah nach der bei Untersuchung von Pflanzenstoffen üblichen Perchloratmethode.

Über die Bestimmung des Nicotins müssen wir nähere Angaben machen. Diese geschah nach dem Verfahren von Toth (s. Authenrieth, Auffindung von Giften, 4. Aufl. S. 209) unter folgenden Abänderungen:

Um einen größeren Ausschlag beim Titrieren zu erhalten, haben wir 12 g Trockensubstanz mit 25 ccm einer 20%igen Natronlauge innig durchfeuchtet, mit etwa 20 g gebrannten Gipses gemischt, so daß ein lockeres Pulver entstand, dieses in einen Kolben von $^1/_2$ l Rauminhalt gebracht, 250 ccm eines Gemenges von gleichen Teilen Äther und Petroläther hinzugegeben und dann 20 Minuten lang in einem Rotierapparat mit elektrischer Triebkraft, wie er in agrikultur-chemischen Laboratorien für verschiedene Zwecke in Gebrauch ist, langsam

rotieren lassen. Beim Schütteln mit der Hand konnte eine gleich gute Extraktion des Nicotins nicht bewirkt werden.

Nachdem sodann die Flüssigkeit durch Absetzen des Niederschlages sich geklärt hatte, wurde erstere in einen fest verschließbaren Standzylinder übergeführt, und verblieb dort bis zur völligen Klärung. Dies ist zweckmäßig, um beim Pipettieren das Aufsaugen geringer Mengen von dem feinen Bodensatz zu vermeiden. Von dem klaren Äther-Petrolätherauszuge wurden 100 ccm in einem größeren Kolben mit etwa 300 ccm Wasser versetzt, einige Tropfen einer Lösung von Rosolsäure (diese war nach unseren Erfahrungen der beste Indicator) versetzt und mit $^{n}/_{5}$-Schwefelsäure unter gutem Umschütteln so lange versetzt, bis die wässerige Flüssigkeit farblos erschien. Dann ist ebensoviel $^{n}/_{5}$-Natronlauge zugesetzt, wie von der Säure genommen war. Die hierdurch rosa gewordene Flüssigkeit wird mit Säure titriert, bis sie farblos geworden ist. Aus dem Mehrverbrauch an Säure berechnet sich die Menge des Nicotins, 1 ccm $^{n}/_{5}$-Säure entspricht 0,0324 g Nicotin.

Ergebnisse der Untersuchungen, bezogen auf Trockensubstanz.

A. Untersuchung der untersten Blätter, des sog. Erdgutes.

	Stickstoff ganze Menge %	Stickstoff (Ammoniak) %	Nicotin %	Stickstoff im Nicotin %	Von 100 Teilen des Stickstoffs sind vorhanden in Form von		
					Nicotin	Ammoniak	sonstigen Verbind.
Unbeschattet . . .	2,91	0,086	1,17	0,202	6,9	2,9	90,2
Leicht beschattet .	3,23	0,065	1,03	0,178	5,5	2,0	92,5
Vier Tage vor der Ernte stark beschattet	3,64	0,085	0,95	0,164	4,5	2,3	93,2

	Rohasche %	Sand %	Reinasche %	Kali in Trockensubstanz %	Kali in Reinasche %
Unbesbhattet	25,01	2,01	17,50	6,08	34,74
Leicht beschattet	29,03	2,71	20,90	7,86	37,60
Vier Tage vor der Ernte stark beschattet	30,51	3,48	21,07	8,33	39,53

B. Untersuchung der übrigen Blätter.

	Stickstoff ganze Menge %	Stickstoff (Ammoniak) %	Nicotin %	Stickstoff im Nicotin %	Von 100 Teilen des Stickstoffs sind vorhanden in Form von		
					Nicotin	Ammoniak	sonstigen Verbind.
Unbeschattet, nicht gegipfelt, nicht gegeizt	2,31	0,039	1,08	0,186	8,0	1,6	90,4
Unbeschattet, gegipfelt, gegeizt .	2,31	0,039	1,25	0,216	9,3	1,6	89,1
Leicht beschattet .	2,65	0,047	1,35	0,233	5,1	1,7	93,2
Sehr stark beschattet	5,30	0,135	1,42	0,245	4,6	2,5	92,2

	Rohasche %	Sand %	Reinasche %	Kali in Trockensubstanz %	Kali in Reinasche %
Unbeschattet, nicht gegipfelt, nicht gegeizt	14,38	0,82	10,06	4,11	41,00
Unbeschattet, gegipfelt, gegeizt	15,44	0,45	11,49	4,22	36,81
Leicht beschattet	19,28	0,59	15,43	6,11	39,54
Sehr stark beschattet . . .	23,86	1,51	17,48	7,91	45,27

Schlußfolgerungen.

1. Nicotin.

Bekannt ist, daß die junge Tabakpflanze wenig Nicotin enthält und die Blätter der nicht geköpften, blütentragenden Pflanzen weniger Nicotin enthalten, als die gegipfelten und gegeizten. Letzteres ist durch unsere Untersuchungen bestätigt. Die Pflanze braucht zur Bildung der Samen stickstoffhaltiges Material. Beseitigt man den oberen Stengelteil mit dem Blütenstande, so können die Stickstoffverbindungen, die die Pflanze von den unteren nach den oberen Teilen befördert, zur Samenbildung nicht dienen, es bildet sich namentlich in den oberen Blättern aus eiweißhaltigem Material eine größere Menge von Nicotin, als wenn die Abwanderung des Stickstoffs in die sich bildenden Samen stattfinden kann.

Für die Entstehung des Nicotins ist die Einwirkung des Sonnenlichtes von Wichtigkeit. Unsere Tabakpflanzen waren

reichlich mit stickstoffhaltigem Material (mit salpetersaurem Harnstoff) ernährt. Dieser Nährstoff tritt schnell in die Pflanze ein. Durch die Beschattung wird der Vorgang der Assimilation ungünstig beeinflußt, es bildet sich eine geringere Menge von organischer Substanz und es ist erklärlich, daß die geerntete Trockenmasse der Blätter um so reicher an Stickstoff ist, je stärker die Beschattung war. Wir konnten durch Verminderung der Intensität des Lichtes den Gehalt der Trockensubstanz der Blätter an Stickstoff von 2,31 auf 5,30 % erhöhen.

Bei Untersuchung der unteren reifen Blätter, die eine gelbliche Farbe angenommen hatten, war der Nicotingehalt mit der Beschattung absolut und relativ vermindert. Andere Verhältnisse finden wir bei den übrigen Blättern, die bei der Ernte nicht gelb, sondern saftig grün gefärbt waren. Infolge der starken Ernährung des Tabaks mit Stickstoff ist der Gehalt an Nicotin bei den beschatteten Blättern höher als bei den nicht beschatteten, wenn wir aber in relativen Zahlen ausdrücken, wieviel von 100 Teilen des vorhandenen Stickstoffs in Form von Nicotin zugegen sind, so sieht man, daß unter dem Einfluß der Beschattung, und zwar einer leichten Beschattung, die Menge des Nikotin-Stickstoffs von 8,0 auf 5,1 sinkt.

Die Entstehung von Nicotin wird nicht nur durch das Sonnenlicht beeinflußt, sondern es liegen für die Bildung größerer oder geringerer Mengen von Nicotin noch andere Ursachen vor, und zu diesen gehört die Menge und die Form des zur Ernährung dienenden Stickstoffs. Tabakpflanzen, die stickstoffreich ernährt wurden, haben eine größere Menge von Nicotin als stickstoffarm ernährte.

Auch die Wärme hat einen Einfluß. Adolf Mayer hatte bereits früher nachgewiesen (Landw. Versuchsstationen 38, 454, 1891), daß Tabakpflanzen, die bei größerer Wärme gewachsen sind, nicht nur mehr Blattmasse erzeugen, sondern daß auch der Nicotingehalt solcher Pflanzen höher ist.

Auf eine Ursache zur Bildung größerer oder geringerer Mengen von Nicotin wurde bisher nicht genügend geachtet, das ist der Wassergehalt des Bodens. Adolf Mayer erzielte bei geringem Wassergehalt des Bodens Pflanzen mit 3,10 % Nicotin. Als er den Wassergehalt des Bodens durch reichliches

Gießen auf ungefähr 80 % der wasserfassenden Kraft erhöhte, hatten die Pflanzen nur 1,05 bis 1,20 % Nicotin in der Trockensubstanz. Wir haben bei unseren Kulturen reichlich mit Wasser gegossen. Bei der Konstruktion der Gefäße war es ausgeschlossen, daß im Untergrunde stauende Nässe sich ansammeln konnte, die Pflanzen litten demnach keinen Schaden durch die großen Mengen des Wassers und sie hatten, wenn volles Sonnenlicht ihnen zur Verfügung stand, sie nicht gegeizt und gegipfelt wurden, nur 1,08 % Nicotin. Das ist recht wenig.

Wir sehen, daß die Bildung des Nicotins von recht verschiedenen Ursachen beeinflußt wird, und von solchen hat zweifellos die Beschattung auf die Verminderung des Gehaltes an Nicotin einen großen Einfluß. Wir können viel Nicotin in den Blättern erzeugen bei:

1. ungehindertem Zutritt des Sonnenlichtes,
2. höherer Lufttemperatur,
3. sehr reichlicher Düngung mit Stickstoffsubstanzen,
4. mäßigem Wasservorrat im Boden.

Es würde von Interesse sein, zu verfolgen, in welcher Weise andere alkaloidhaltige Pflanzen bezüglich ihres Alkaloidgehaltes durch Sonnenlicht, Wärme, Stickstoffnahrung und Wasser beeinflußt werden. Nach einer Mitteilung, die dem zuerst genannten Berichterstatter im vorigen Jahre bei Besichtigung der Treibhäuser einer sehr großen Arzneimittelfabrik in Indianopolis (Indiana) gemacht wurde, ist das Vermögen, eine größere Menge von Alkaloiden zu erzeugen, bei einzelnen Pflanzen derselben Art individuell verschieden und erblich. Man kann durch Zuchtwahl alkaloidreichere Pflanzen hervorbringen. Diese Tatsache würde auch bei der Beantwortung der Frage zu beachten sein, auf welche Weise man den Gehalt der Pflanzen an Alkaloiden steigern bzw. vermindern kann.

2. Kali.

Die Brennbarkeit des Tabaks wird durch einen hohen Gehalt an Kali bei recht geringem Gehalt an Chlor günstig beeinflußt. Erfahrungsgemäß erhält man durch reichliche Düngung mit reinem Kaliumsulfat bei möglichst geringem Chlorgehalt der sonstigen Düngstoffe gute Ergebnisse. Bei unseren Versuchen haben wir den Pflanzen viel Kali und recht wenig

Chlor zugeführt. Bei der Beschattung machten wir die Beobachtung, daß der Gehalt der Trockensubstanz an Kali um so höher ist, je mehr die Pflanzen dem Einfluß des direkten Sonnenlichtes entzogen waren. Die unteren Blätter mit 6,08 °/₀ Kali enthielten bei schwacher Beschattung 7,86 °/₀ und bei starker Beschattung 8,33 °/₀. Bei den übrigen Blättern war die Steigerung von 4,11 °/₀ auf 6 und auf nahezu 8 °/₀ Kali. Vorzugsweise dürfte diese Tatsache (die eine Verbesserung der Qualität bedeutet), dadurch veranlaßt sein, daß die Kalisalze von der Pflanze schnell aufgenommen werden, sie reichert sich damit an. Ist infolge stärkerer Beschattung die Produktion der organischen Substanz vermindert, so werden die Blätter kalireicher sein.

Über die Verteilung des Blutes vom linken Herzen zwischen dem Herzen und dem übrigen Organismus.

Von

V. Henriques.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 12. September 1913.)

Vor 16 Jahren veröffentlichten Chr. Bohr und ich[1]) das Resultat einer Reihe von Versuchen, die angestellt worden waren, um zu untersuchen, wo im tierischen Organismus der Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäurebildung anzunehmen waren.

Das Prinzip der angewendeten Methodik war in Kürze folgendes: Nachdem in der Arteria anonyma (Hund) eine Kanüle angebracht worden war, wurde die Aorta mittels einer Klemme abgesperrt und die Art. subclavia sinistra unterbunden. Das Blut vom linken Herzen mußte dann durch die Kanüle in die Arteria anonyma passieren; von dort wurde das Blut nach einer Stromuhr hingeführt, mittels der die Blutmenge bestimmt wurde. Von der Stromuhr wurde das Blut durch eine Arteria femoralis wieder zum Tiere zurückgeführt. Bei diesem Verfahren war es möglich, die Menge Blut zu bestimmen, die pro Minute die Lungen passierte, d. h. wenn die Blutmenge, die durch die Coronararterien hinauslief, bekannt war. Durch besondere Versuche meinten wir, diese Blutmenge zu 30 ccm pro 100 g Herz pro Minute ansetzen zu können[2]).

Außer der Blutmenge durch die Lungen wurde die Kohlensäure- und Sauerstoffmenge des Blutes bestimmt, das zur Lunge lief (d. h. Blut vom rechten Ventrikel), sowie des Blutes, das von der Lunge kam (d. h. Arterienblut).

Schließlich wurde gleichzeitig durch einen Respirationsversuch die ausgeschiedene Menge Kohlensäure und die aufgenommene Menge Sauerstoff bestimmt.

---

[1]) Bohr et Henriques, Recherches sur le lieu de consommation de l'oxygène etc. Arch. de physiol. 1897.

[2]) Bohr et Henriques, Sur l'irrigation sanguine du muscle cardiaque. Extrait du Bulletin de l'Acad. royale des sciences et des lettres de Danemark. 1893.

Bezeichnen wir die in der Zeiteinheit durch die Lunge ausgeschiedene Menge Kohlensäure mit K, die Prozent-Menge CO_2 im Blut von bzw. rechtem Herzen und einer Arterie mit v und a, und die Menge des die Lunge in der Zeiteinheit passierenden Blutes mit M, so muß, wenn die ganze Kohlensäurebildung außerhalb der Gewebe stattgefunden hat,

$$K = M \cdot \frac{v - a}{100}$$

sein. Ist dagegen

$$K > M \cdot \frac{v - a}{100},$$

so muß ein Teil der Kohlensäure in der Lunge selbst gebildet worden sein. Ganz das nämliche gilt selbstverständlich vom Sauerstoff.

In einer Reihe von Versuchen, die wir in der Weise ausführten, fanden Bohr und ich, daß in der Lunge ein Verbrennungsprozeß stattfindet, der bald ganz geringfügig, bald sehr bedeutend sein kann (bis über 60% der gesamten Verbrennung). Der respiratorische Quotient des in der Lunge erfolgten Umsatzes ergab sich als sehr variabel.

Diese Untersuchungen wurden stark kritisiert, u. a. von Zuntz[1]) und später von Loewy[2]); eine Erwiderung auf diese Kritik liegt von Chr. Bohr[3]) vor. Neuerdings haben Zuntz und Durig[4]) es als möglich bezeichnet, daß bei besonders niedrigem Sauerstoffpartialdruck ein Verbrennungsprozeß in der Lunge stattfindet.

Es sind also gegen Bohrs und meine Versuchsresultate gewisse Einsprüche erhoben worden; es liegen aber keine experimentellen Untersuchungen vor, die unsere Resultate bestätigen oder aber widerlegen könnten.

Kurz vor seinem Tode redete Bohr mit mir davon, daß es wünschenswert sei, daß die früheren Versuche nach anderen Methoden wieder aufgenommen würden; namentlich müsse man die durch die Lunge strömende Blutmenge in anderer und besserer Weise zu bestimmen suchen, als wir es bei unseren früheren Versuchen getan hätten.

Bohr nahm auch die Versuche mit gewohnter Energie in

---

[1]) Zuntz und Hagemann, Stoffwechsel des Pferdes. S. 371. Berlin 1898.

[2]) Loewy, Handb. d. Biochemie 4, 1, 1908.

[3]) Chr. Bohr, Über die spezifische Tätigkeit der Lungen usw. Skandinav. Arch. f. Physiol. 22, 1909.

[4]) N. Zuntz und A. Durig, Skandinav. Arch. f. Physiol. 29, 1913.

Angriff, hatte aber nur einige einleitende Versuche ausgeführt, als der Tod unerwartet und plötzlich seiner Arbeit ein Ziel setzte.

Die bei einer Revision unserer Versuche über die Lungenverbrennung zunächst vorliegende Aufgabe war die Bestimmung der die Lunge in der Zeiteinheit durchströmenden Blutmenge in anderer Weise, als bei unseren früheren Versuchen.

Es ließen sich hier zwei verschiedene Verfahren anwenden. Das eine — das eine Modifikation von der zuerst von Bernstein angegebenen Methode darstellt — ist gleichzeitig von Zuntz, Müller und Markoff[1]) und von Krogh und Lindhard[2]) angekündigt worden; das Prinzip beruht auf Einatmung eines Stickstoffoxydul enthaltenden Luftgemisches und einer Untersuchung der Menge dieses Gases, die im Blute aufgenommen wird.

Ich habe dies Verfahren nur ein paarmal versucht; meines Erachtens eignet es sich nicht so gut für Versuche mit Hunden wie für Versuche mit Menschen; eine bestimmte Ansicht über die Anwendbarkeit der Methode für das hier vorliegende Problem kann ich aber nicht geben.

Die andere Methode ist von Stewart[3]) angegeben worden, der bei der Bestimmung der vom linken Herzen ausströmenden Blutmenge folgendermaßen verfuhr: In den linken Ventrikel wird eine bestimmte Menge NaCl-Lösung injiziert; durch die Veränderung der elektrischen Leitfähigkeit wird der Zeitpunkt bestimmt, wo die injizierte Lösung bis in eine beliebige periphere Arterie gelangt ist. In demselben Augenblick, wo dieser Zeitpunkt mittels eines Telephons signalisiert worden ist, wird der Arterie eine Blutprobe entnommen. Danach untersucht man, wieviel der zur Injektion angewandten NaCl-Lösung man zu einer vor der Injektion entnommenen Blutprobe setzen soll, damit diese dieselbe elektrische Leitfähigkeit erhalte wie die während des Versuchs entnommene Blutprobe. Ist die injizierte Menge NaCl-Lösung und die zur Normalprobe zu setzende Menge der NaCl-Lösung bekannt, so kann man ausrechnen, wie viel Blut während der Versuchszeit aus dem linken Ventrikel herausgeströmt ist.

[1]) Zeitschr. f. Balneologie 4, 1911.
[2]) Skandinav. Arch. f. Physiol. 27, 1912.
[3]) Journ. of Physiol. 22, 1897.

Statt der NaCl-Lösung habe ich eine Rhodannatriumlösung angewendet, die, ohne zu schaden, in bedeutender Menge injiziert werden kann und den Vorteil darbietet, daß sich die Menge von Rhodannatrium im Blute sehr leicht colorimetrisch bestimmen läßt.

Ein Versuch wird in folgender Weise ausgeführt: Durch die Carotis sin. wird ein dünner, oben mit einem Metallhahn versehener Metallkatheter in den linken Ventrikel hinabgeführt. Gewöhnlich wird die Spitze des Katheters zu Anfang auf die Semilunarklappen der Aorta stoßen, bei einiger Übung gelingt es aber immer, an den Klappen vorbei und in den Ventrikel hineinzukommen. Ist der Katheter nicht unter die Klappen hinabgekommen, so ist der Versuch unbrauchbar, da man in dem Falle nicht die Blutmenge bestimmt, die aus dem Ventrikel hinausgeht, sondern diese Menge abzüglich der Menge, die durch die Coronararterien geht.

In der Arteria femoralis dextra wird eine ⊥-Kanüle angelegt, durch die das Blut frei strömen kann. Die Seitenröhre der Kanüle wird mit einer Glascapillarröhre verbunden, die mit einem kleinen, mit Klemmschraube versehenen Kautschukschlauch endigt. Durch diese Seitenröhre kann dem durch die ⊥-Kanüle strömenden Blut eine Probe entnommen werden.

In der Arteria femoralis sin. wird ein Quecksilbermanometer angebracht zum Verzeichnen des Blutdrucks, sowie zur Bestimmung der Anzahl der Herzcontractionen.

Um das Blut flüssig zu erhalten, wird in eine Vene Egelextrakt injiziert (3 bis 4 Egel pro Kilogramm Tier). Gewöhnlich wird es in der Weise gelingen, das Blut viele Stunden nach der Entleerung flüssig zu erhalten. Dies ist auch durchaus notwendig, denn wenn die Blutproben gerinnen, lassen sich die Rhodannatriumbestimmungen nicht ausführen.

Ein Nachteil der großen Menge Egelextrakt ist die oft — aber nicht immer — eintretende bedeutende Blutdrucksenkung. Jedoch kann der Blutdruck oft durch eine angemessene Injektion von Adrenalin gesteigert werden und sich dann längere Zeit hindurch halten. Nachdem die genannten Operationen ausgeführt worden sind, werden erst in einem Wägeglas (mit gläsernem Stöpsel), dessen Gewicht im voraus bestimmt worden ist, 2 Blutproben von ca. 6 g Blut entnommen; danach werden

mit einer Rekordspritze $2^1/_2$ ccm einer ca. $10^0/_0$ igen Rhodannatriumlösung durch den Katheter in den linken Ventrikel injiziert. Die Injektion dauert 5 Sek. Gleichzeitig mit dem Anfang der Injektion wird durch die ⊥-Kanüle 15 bis 16 Sek. lang eine Blutprobe entnommen.

Zu einer der normalen Blutproben wird darauf eine bestimmte Menge der Rhodanlösung gesetzt, die bei der Injektion angewandt wurde. Man verdünnt dann sowohl diese Blutprobe als die nach der Injektion entnommene Versuchsprobe mit genau 5 mal soviel $0{,}9^0/_0$ ige NaCl-Lösung, worauf beide Proben zentrifugiert werden. Nach dem Zentrifugieren wird die über den Blutkörpern stehende klare Flüssigkeit abpipettiert, und von beiden Proben werden z. B. 10 ccm genommen. Zu beiden werden 24 Tropfen $FeCl_3$-Lösung (in $^n/_{10}$-HCl) gesetzt, wodurch die Flüssigkeit die bekannte Eisenrhodanatfarbe annimmt.

Man bestimmt darauf die Farbstärke der Versuchsprobe im Verhältnis zu der der Kontrollprobe, und man hat nun alle die Größen, die zur Ausrechnung der Blutmenge notwendig sind, die in den 16 Sek., welche die Probeentnahme dauerte, aus dem linken Ventrikel herausgeströmt ist.

Setzen wir die ins Herz injizierte Rhodannatriumlösung gleich $i \cdot g$, die Blutmenge der Normalprobe gleich $b \cdot g$, die zu dieser Probe gesetzte Menge Rhodanlösung gleich $q \cdot g$ und die Farbstärke der Versuchsprobe im Verhältnis zu der der Normalprobe gleich a, so finden wir die Blutmenge vom linken Herzen gleich $\frac{i \cdot b}{a \cdot q} g$ (bei der Umrechnung dieser Größe von Gramm in Kubikzentimeter wurde das spezifische Gewicht des Blutes zu 1,060 angesetzt).

Von Bedeutung ist es, wie oben erwähnt, daß das Blut sich flüssig hält; tritt Koagulation ein, ist es nicht möglich, ein Plasma des richtigen Gehalts an Rhodannatrium zu erhalten.

Ferner ist es notwendig, daß die Farbstärke der Versuchsprobe und die der Normalprobe möglichst gleich sind; dadurch vermeidet man nämlich den Fehler, der dadurch entstehen kann, daß etwas vom Rhodannatrium in die Blutkörperchen hineindringt und also nicht mit bestimmt wird.

Da man nicht im voraus sicher wissen kann, wie viel Natriumrhodanatlösung man zur Normalprobe setzen soll, nimmt man, wie oben erwähnt, zwei Normalproben. Die eine gebraucht man,

um zu bestimmen, wie viel man zur anderen Probe setzen soll, damit die Farbstärke mit der der Versuchsprobe übereinstimme.

Eine Bedingung dafür, daß die Methode benutzt werden kann, ist, daß die injizierte Flüssigkeit tatsächlich mit dem Blut vermischt wird; daß dies mit Wahrscheinlichkeit stattfindet, hat Stewart in der obenerwähnten Abhandlung in hohem Grade wahrscheinlich gemacht, und die konstanten, mit der Methode gewonnenen Resultate sprechen auch für eine solche Mischung. Konstruiert man einen Apparat, der den Verhältnissen im Organismus entspricht, aus einer kleinen Glaspumpe bestehend, die Wasser in einen Kautschukschlauch hineinpumpt, so wird man sich, wenn man irgendwo in die Leitung Rhodannatriumlösung injiziert und später einer Seitenröhre eine kleine Probe entnimmt, leicht davon überzeugen können, daß die Methode in einem solchen Apparat richtige Resultate ergibt.

Eine Frage von großer Bedeutung bei der Anwendung der Methode ist: Wie lange soll die Probeentnahme von Blut dauern?

Wie erwähnt, beginnt die Probeentnahme in demselben Augenblick, wo die Injektion anfängt, und es kann also nicht davon die Rede sein, daß Rhodannatrium enthaltendes Blut vorbeigeraten kann, bevor die Probeentnahme begonnen hat. Wie lange soll sie aber dauern? Wann hat das ganze Rhodannatrium die ⊥-Kanüle passiert, und wann kann man annehmen, daß das Rhodannatrium nach vollführtem Kreislauf wieder zur ⊥-Kanüle zurückkehrt?

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich eine Reihe Versuche an Hunden ausgeführt, bei denen nach der Injektion der Rhodannatriumlösung jede Sekunde aus der Arterie eine kleine Blutprobe in kleine Wägegläser entnommen wurde, deren Gewicht im voraus bestimmt worden war. Meistens wurden 30 solche Sekundenproben genommen; die Blutmenge in jedem Glase wurde durch Wägen bestimmt; darauf wurden alle Proben mit 5 mal so viel NaCl-Lösung verdünnt und zentrifugiert; demnächst wurde die Rhodannatriummenge colorimetrisch bestimmt. Als Beispiel mag folgender Versuch dienen.

Hund. Gewicht 26 kg. Morphin. In der rechten Arteria femoralis wird eine ⊥-Kanüle zur Probeentnahme angebracht.

Darauf wird Egelinfus in die Vena jugularis injiziert. Ein Katheter wird ins linke Herz eingeführt. Es werden 5 ccm Rhodannatriumlösung injiziert (die Injektion dauerte ca. 1 Sek.), wonach 30 Blutproben, je ca. 1 Sek. dauernd, entnommen werden. Die Farbstärke der einzelnen Proben wird im Verhältnis zu ein und derselben Kontrollösung bestimmt. Die Zahlen der Farbstärke sind also relative Werte.

Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke
1	0,3	9	4,0	17	1,5	25	2,5
2	0,3	10	2,4	18	1,8	26	2,7
3	0,3	11	1,5	19	2,0	27	2,5
4	6,3	12	1,2	20	2,2	28	2,5
5	35,0	13	1,0	21	2,3	29	2,6
6	32,0	14	1,0	22	2,5	30	2,5
7	17,2	15	1,1	23	2,6		
8	7,8	16	1,2	24	2,7		

15 Minuten nach diesem Versuch wird durch die Arteria femoralis sinistra ein dünner Katheter in die Aorta hinaufgeführt. Die Spitze des Katheters lag bei der Sektion in derselben Höhe wie der Abgang der Nierenarterien. Durch diesen Katheter wurden 5 ccm Rhodannatriumlösung injiziert, wonach wieder 30 Blutproben, je ca. 1 Sek. dauernd, entnommen wurden. Das Resultat war:

Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke
1	1,4	9	4,7	17	3,4	25	3,6
2	1,4	10	2,7	18	3,8	26	3,5
3	1,4	11	2,0	19	4,4	27	3,2
4	20,2	12	1,7	20	4,3	28	3,3
5	48,0	13	1,6	21	4,2	29	3,2
6	73,5	14	1,9	22	4,2	30	3,2
7	43,0	15	2,3	23	4,0		
8	13,4	16	2,9	24	3,8		

15 Minuten darauf wird ein Katheter ins rechte Herz hinabgeführt (der Katheter lag bei der Sektion mitten im rechten Ventrikel). Es werden durch den Katheter 5 ccm Rhodannatriumlösung injiziert und dann 28 Blutproben, je 1 Sek. dauernd, entnommen. Das Resultat war:

Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke	Nr.	Farbstärke
1	2,1	8	3,7	15	10,2	22	?
2	2,2	9	6,9	16	?	23	3,3
3	2,2	10	9,6	17	10,1	24	4,4
4	2,1	11	16,4	18	6,0	25	4,4
5	2,3	12	18,0	19	4,7	26	4,8
6	2,4	13	15,4	20	4,3	27	4,2
7	3,0	14	13,7	21	2,7	28	4,4

Betrachtet man diese 3 Versuche genauer, wird man sehen, daß die beiden ersteren einander ganz ähnlich sind, während der dritte, wo die Injektion am rechten Ventrikel stattfand, sich anders verhält.

Im 1. und 2. Versuch, wo die Injektionen bzw. am linken Ventrikel und an der Aorta descendens stattfanden, tritt die Farbe schnell — 3 Sek. — nach der Injektion auf; im Laufe von 2 bis 3 Sek. ist das Maximum der Farbintensität erreicht, wonach die Farbstärke schnell wieder abnimmt und im Laufe von ca. 6 Sek. das Minimum erreicht; dies Minimum dauert jedoch nur ein paar Sekunden, darauf nimmt die Farbstärke wieder zu und bleibt noch 6 bis 8 Sek. sozusagen konstant.

Die Versuche zeigen also, daß sich nicht — wie man erwarten sollte — ein Zeitpunkt einstellt, wo die Farbe ganz verschwindet und einige Sekunden wegbleibt. Die Farbstärke sinkt zwar bedeutend, jedoch nie ganz auf Null hinab, und das Minimum hält sich nur 1 bis 2 Sek., wonach die Stärke wieder zunimmt. Daß sich kein längerer Zeitraum einstellt, in dem die Farbe ganz verschwindet, muß selbstverständlich darauf beruhen, daß das injizierte Rhodannatrium schnell wieder zum linken Ventrikel zurückkehrt. Diese schnelle Zurückkehr geht sicherlich nicht durch alle Capillaren des großen Kreislaufes vonstatten, sondern hauptsächlich durch besondere Verbindungen zwischen Arterien und Venen, die sogenannten derivatorischen Kanäle[1]). Solche sind u. a. im Herzen von Nußbaum, in der Nierenkapsel von Gehberg nachgewiesen worden, und die Bedeutung der Kanäle für den Kreislauf,

[1]) Ein Näheres über die derivatorischen Kanäle findet man bei A. Nußbaum, Über das Gefäßsystem des Herzens. Arch. f. mikroskop. Anatomie 80, 1912.

speziell die Regulation der Druckverhältnisse wird z. B. von Nußbaum besprochen.

Betrachten wir das Resultat des Versuches, wo die Injektion der Rhodannatriumlösung am rechten Ventrikel stattfand, so sehen wir, daß die Farbstärke nur langsam das Maximum erreicht (Probe 12) und wieder langsam auf das Minimum sinkt (Probe 21), um sodann etwas zuzunehmen und schließlich konstant zu bleiben.

Der Grund zur langsamen Zu- und Abnahme ist unzweifelhaft, daß der Farbstoff nicht alle Lungencapillaren mit derselben Geschwindigkeit durchzieht.

Aus den angeführten Versuchen wird erhellen, daß sich nur die Injektion von Rhodannatriumlösung in den linken Ventrikel zur Bestimmung der Blutmenge eignet, die aus dem Herzen herausströmt, während die Injektion in den rechten Ventrikel wegen des Verhaltens des Farbstoffs in der Lunge nicht verwendbar ist. Ferner ist es sehr wahrscheinlich, daß ein Teil des Rhodannatriums im Lungengewebe deponiert wird, woraus sich naturgemäß eine zu große Ziffer der gesuchten Blutmenge ergeben würde.

Aus den beiden ersten Versuchen wird ferner hervorgehen, daß die Blutprobeentnahme aus einer Arterie nach der Injektion nicht mehr als ca. 12 Sek. nach Aufhören der Injektion zu dauern hat. Wartet man länger, riskiert man, etwas vom zurückkehrenden Rhodannatrium mit in die Probe zu bekommen, was jedoch nicht besonders viel zu bedeuten hat, da die Salzmenge des Blutes, nachdem das Minimum erreicht worden ist, nur sehr gering ist.

Der Grund dafür, daß die Salzmenge des Blutes bereits während der ersten Passage durch den Körper stark abnimmt, ist unzweifelhaft der, daß das Rhodannatrium sehr schnell vom Blut an die Gewebe abgegeben wird.

Dies geht sehr deutlich aus folgendem Versuch hervor. Werden 2 ccm einer ca. $10^0/_0$igen Rhodannatriumlösung in eine Vene eines Kaninchens injiziert, und wird dem Tier $^1/_2$ Min. danach eine Blutprobe entnommen, so wird man finden, daß die Farbstärke des Blutes nur $^3/_7$ der Farbstärke darstellt, die man erhält, wenn man 2 ccm Rhodannatriumlösung zu so viel normalem Kaninchenblut setzt, wie der Blutmenge des

Kaninchens entspricht (ad modum Dreyer und Ray[1]) berechnet). Nach $^1/_2$ Min. sind also $^4/_7$ des injizierten Salzes aus dem Blute verschwunden, und nach 3 Min. ist die Salzmenge des Blutes auf $^2/_7$ der injizierten Menge gesunken. Dies Verhältnis ist von Bedeutung, indem es die Ausführung einer Reihe von Versuchen verhältnismäßig schnell nacheinander ermöglicht.

Wie oben erwähnt, gingen Bohr und ich davon aus, daß die Blutmenge, die pro Minute das Herz passierte, gleich 30 ccm pro 100 g Herz sei. Dies Resultat läßt sich durch die angeführte Injektionsmethode kontrollieren, indem man Rhodannatriumlösung ins linke Herz und gleichzeitig einen anderen leicht nachweisbaren Stoff über den Aortaklappen injiziert. Die Differenz zwischen den beiden in der Weise gewonnenen Werten der Blutmenge muß der Blutmenge entsprechen, die durch die Coronararterien gegangen ist.

Ich habe deshalb versucht, einen Stoff zu finden, der sich neben dem Rhodannatrium anwenden ließe. Ein solcher Stoff muß folgende Eigenschaften besitzen: 1. er darf nicht giftig sein, 2. er muß leicht, am liebsten colorimetrisch bestimmbar sein, und 3. darf dessen Nachweis nicht durch das Vorhandensein von Rhodannatrium gehindert werden, wie auch letzteres stets mit Eisenchlorid nachzuweisen sein muß.

Nach langem vergeblichem Suchen gelang es mir endlich, einen Stoff zu finden, der die genannten Eigenschaften besitzt, nämlich das Kreatinin. Dieser Stoff ist ungiftig, sein Vorhandensein stört nicht den Nachweis von Rhodan, und schließlich ist er leicht nachweisbar und wird quantitativ durch die von Folin angegebene colorimetrische Methode bestimmt.

Bevor ich Kreatinin anwendete, stellte ich jedoch mehrere Versuche an, um die Größe des Coronarkreislaufes bei alleiniger Anwendung von Rhodannatrium zu bestimmen, indem ich erst durch einen in den linken Ventrikel eingeführten Katheter Rhodannatrium injizierte und dadurch bestimmte, wie viel Blut aus dem linken Ventrikel herauslief; darauf wurde nach einigen Minuten durch einen Katheter, dessen Spitze in dem

[1]) G. Dreyer and W. Ray, Philos. Transact. of the R. Soc. Series B. Vol. 201.

Aortabogen lag, wiederum Rhodannatriumlösung injiziert; hierdurch wurde die Blutmenge bestimmt, die durch die Aorta strömt, und die Differenz zwischen der ersten und zweiten Bestimmung ergibt dann die durch die Coronararterien passierende Blutmenge. Bei diesem Verfahren finden also die beiden Bestimmungen nicht gleichzeitig statt, da aber die zeitliche Differenz zwischen den Bestimmungen nur gering ist, liegt kein Grund vor, anzunehmen, daß sich die Kreislaufverhältnisse in nennenswertem Grade verändert haben, um so mehr, als sich der Blutdruck, der immer während des Versuches gemessen wurde, nicht verändert hat.

Versuch 1.

Hund. Gewicht 16 kg. Gewicht des Herzens 132 g. Morphin. Curare. Künstliche Respiration. Es wird in die Arteria cruralis sinistra eine Kanüle eingeführt, die mit einem Quecksilbermanometer in Verbindung gesetzt wird. In die Arteria cruralis dextra wird eine ⊥-Kanüle eingeführt, jedoch beginnt die Passage des Blutes durch letztere erst, nachdem das Tier einen Egelinfus erhalten hat. Darauf wird der Thorax geöffnet. Die Arteria anonyma und Arteria subclavia sinistra werden herauspräpariert. Durch die Anonyma wird ein Katheter in den linken Ventrikel hinabgeführt, und es wird um den Katheter direkt am Abgang der Arterie vom Aortabogen eine Ligatur angelegt. Darauf wird durch die Arteria subclavia sinistra ein Katheter geführt. Die Spitze des Katheters kommt direkt im Aortabogen zu liegen, wonach auch hier eine Ligatur um die Arterie und den Katheter direkt am Abgang der Arterie vom Aortabogen angelegt wird. Darauf wird durch die Vena jugularis Egelinfus injiziert (4 Egel pro Kilogramm), und kurz danach beginnt der eigentliche Versuch mit Injektion von Rhodannatriumlösung durch die Katheter, abwechselnd durch den Katheter des linken Ventrikels und den des Aortabogens.

1. 10 Uhr 48 Min. Injektion in den linken Ventrikel.
   Blutdruck = ca. 115 mm, Blutmenge pro Sek. = 19,0 g.
2. 10 Uhr 53 Min. Injektion in den Aortabogen.
   Blutdruck = ca. 115 mm, Blutmenge pro Sek. = 15,4 g.
3. 10 Uhr 57 Min. Injektion in den linken Ventrikel.
   Blutdruck = ca. 115 mm, Blutmenge pro Sek. = 18,7 g.
4. 11 Uhr 1 Min. Injektion in den Aortabogen.
   Blutdruck = ca. 115 mm, Blutmenge pro Sek. = 15,6 g.

Als mittlere Zahl von 1 und 3 erhalten wir 18,85 g Blut pro Sekunde; als mittlere Zahl von 2 und 4 15,5 g. Durch die Coronararterien sind also pro Sekunde 18,85 — 15,50 = 3,35 g geströmt. Von der aus dem linken Ventrikel herausströmenden Blutmenge passierten 17,8 % durch die Coronararterien. Pro 100 g Herz pro Minute 152 g gleich 148 ccm Blut.

Versuch 2.

Hund. Gewicht 17,2 kg. Gewicht des Herzens 129 g. Verfahren wie bei Versuch 1.

1. 10 Uhr 48 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = ca. 55 mm, Blutmenge pro Sek. = 17,8 g.
2. 10 Uhr 53 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = ca. 55 mm, Blutmenge pro Sek. = 12,8 g.
3. 10 Uhr 57 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = ca. 55 mm, Blutmenge pro Sek. = 16,8 g.
4. 10 Uhr 59 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = ca. 50 mm, Blutmenge pro Sek. = 12,9 g.
5. 11 Uhr 2 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = ca. 40 mm, Blutmenge pro Sek. = 14,0 g.
6. 11 Uhr 6 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = ca. 35 mm, Blutmenge verloren.
7. 11 Uhr 13 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = ca. 25 mm, Blutmenge pro Sek. = 13,0 g.
8. 11 Uhr 17 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = ca. 20 mm, Blutmenge pro Sek. = 9,2 g.
9. 11 Uhr 20 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = ca. 17 mm, Blutmenge pro Sek. = 11,4 g.
10. 11 Uhr 23 Min. Injektion in die Aorta.
    Blutdruck = ca. 15 mm, Blutmenge pro Sek. = 8,8 g.

Aus den Zahlen erhellt, daß die Blutmenge, die durch das linke Herz und den Aortabogen passiert, vom Anfang des Versuchs an gleichmäßig abnimmt; dies steht sicherlich in Verbindung mit dem fortwährend fallenden Blutdruck.

Als mittlere Zahl von 1, 3, 5, 7 und 9 erhalten wir 14,6 g Blut pro Sekunde aus dem linken Ventrikel; die von 2, 4, 6, 8 und 10 ergibt 10,9 g Blut pro Sekunde durch den Aortabogen. Durch die Coronararterien sind also durchschnittlich 14,6 — 10,9 = 3,7 g Blut pro Sekunde geströmt, was 25,3% der aus dem linken Ventrikel herausströmenden Blutmenge entspricht. Pro 100 g Herz pro Minute 172 g gleich 162 ccm Blut.

Versuch 3.

Hund. Gewicht 21 kg. Gewicht des Herzens 136 g. Verfahren wie bei Versuch 1.

1. 10 Uhr 45 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = 55 mm, Blutmenge pro Sek. = 13,8 g.
2. 10 Uhr 48 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = 45 mm, Blutmenge pro Sek. = 16,2 g.
3. 10 Uhr 51 Min. Injektion in die Aorta.
   Blutdruck = 40 mm, Blutmenge pro Sek. = 9,9 g.
4. 10 Uhr 54 Min. Injektion in das linke Herz.
   Blutdruck = 30 mm, Blutmenge pro Sek. = 14,7 g.

5. 10 Uhr 57 Min. Injektion in die Aorta.
Blutdruck = 25 mm, Blutmenge pro Sek. = 9,9 g.
6. 11 Uhr 1 Min. Injektion in das linke Herz.
Blutdruck = 23 mm, Blutmenge pro Sek. = 12,5 g.

Die mittlere Zahl von 2, 4, 6 ergibt 14,5 g Blut pro Sekunde aus dem linken Ventrikel; die von 1, 3, 5 ergibt 11,2 g Blut pro Sekunde durch die Aorta. Durch die Coronararterien strömten also durchschnittlich 14,5 — 11,2 = 3,3 g Blut pro Sekunde oder 22,7 % der aus dem linken Ventrikel herausströmenden Blutmenge. Pro 100 g Herz pro Minute 146 g gleich 138 ccm Blut.

Versuch 4.

Hund. Gewicht 8,5 kg. Gewicht des Herzens 114 g. Verfahren wie bei Versuch 1. Hier wurde gleichzeitig in das linke Herz Rhodannatriumlösung und in den Aortabogen Kreatininlösung (fast gesättigte Lösung) injiziert.

Nr.	Uhr	Durchs Herz g	Durch die Aorta g	Durch die Coronariae g	Durch die Coronariae %	Blutdruck mm
1	11^{05}	16,0	11,4	4,6	28,7	85
2	11^{11}	13,4	?	?	?	80
3	11^{19}	11,1	8,9	2,2	19,8	40
4	11^{23}	9,9	7,9	2,0	20,2	35
5	11^{27}	8,1	6,7	1,4	17,3	35
6	11^{31}	8,3	6,5	1,8	21,7	30

Die mittleren Zahlen von 1, 3, 4, 5 und 6 ergeben fürs linke Herz 10,68 g und für die Aorta 8,28 g. Durch die Coronararterien also durchschnittlich 2,4 g pro Sekunde oder 22,5 % der aus dem linken Ventrikel herausströmenden Blutmenge. Pro 100 g Herz pro Minute 126 g gleich 119 ccm Blut.

Versuch 5.

Hund. Gewicht 9 kg. Gewicht des Herzens 74 g. Verfahren wie bei Versuch 1. Hier wurde gleichzeitig ins linke Herz Rhodannatrium und in den Aortabogen Kreatininlösung injiziert.

Nr.	Uhr	Durchs Herz g	Durch die Aorta g	Durch die Coronariae g	Durch die Coronariae %	Blutdruck mm
1	1^{44}	10,2	8,7	1,5		60
2	1^{48}	12,9	9,9	3,0		70
3	1^{54}	12,8	11,1	1,7		80
4	1^{58}	12,4	10,5	1,9		80
5	2^{03}	11,7	10,7	1,0		100
6	2^{06}	12,1	10,1	2,0		100
7	2^{11}	12,8	10,1	2,7		110
8	2^{16}	12,6	9,6	3,0		105
9	2^{21}	11,4	9,0	2,6		110

Die mittleren Zahlen ergeben fürs linke Herz 12,1 g und für die Aorta 9,97 g pro Sekunde. Durch die Coronararterien also 2,13 g pro Sekunde oder 17,6 % der aus dem linken Ventrikel herausströmenden Blutmenge. Pro 100 g Herz pro Minute 173 g gleich 163 ccm Blut.

Stellen wir die oben gewonnenen Resultate zusammen:

Versuch	Blutmenge durch die Coronararterien %	Blutmenge pro 100 g Herz pro Minute g
1	17,8	143
2	25,3	162
3	22,7	138
4	22,5	119
5	17,6	163

Wir sehen also, daß eine sehr bedeutende Menge des aus dem linken Herzen herausströmenden Blutes durch die Coronararterien geht: von 17,6 bis 25,3 %. Im normalen Organismus braucht man jedoch nicht eine so bedeutende Blutversorgung des Herzens anzunehmen; man muß sich nämlich daran erinnern, daß bei den angestellten Versuchen alle Zweige des Aortabogens unterbunden waren, was sicherlich für die Verteilung des Blutes vom linken Ventrikel von großer Bedeutung ist.

Die Zahlen, welche die pro 100 g Herz pro Minute berechnete Blutmenge — den sog. Irrigationskoeffizienten — bezeichnen, zeigen, daß dieser Koeffizient bedeutend größer ist als derjenige, mit dem Bohr und ich bei unseren früheren Versuchen rechneten; wir setzten ihn zu 30 an, während er in den oben angeführten Versuchen zwischen 119 und 163 schwankt.

Da es indes für die Beurteilung von Bohrs und meinen früheren Versuchen von großer Bedeutung ist, die Verteilung des Blutes zwischen dem Herzen und dem übrigen Organismus zu kennen, wenn alles Blut aus der Aorta gezwungen wird, eine Stromuhr zu passieren, habe ich einige Injektionsversuche ähnlicher Versuchsanordnung wie bei unseren früheren Versuchen angestellt; dadurch wird ferner erreicht, daß man imstande ist, die für die durch die Aorta strömende Blutmenge erhaltenen Werte zu kontrollieren, indem wir die durch die Injektionsmethode gefundenen Zahlen mit den durch die Stromuhr gewonnenen vergleichen können.

Es wurde in folgender Weise verfahren: Erst wurde Morphin, darauf Curare eingegeben. Der Thorax wurde geöffnet,

und durch die rechte Carotis wurde ins linke Herz ein Katheter eingeführt. Die Arteria subclavia dextra wird unterbunden. In die linke Carotis wird eine mit einer kleinen Kugel versehene Kanüle eingeführt; die Kugel hat eine kleine Seitenröhre zur Injektion einer Kreatininlösung. Von der Kugel geht noch eine Röhre aus, durch die das Blut herausströmt, um durch einen Schlauch der Ludwigschen Stromuhr zugeführt zu werden. Zwischen die Stromuhr und die Kugel, der ersteren zunächst, ist eine ⊥-Röhre eingeschaltet, so daß hier durch eine Capillarröhre Blutproben entnommen werden können. Von der Stromuhr aus wird das Blut wieder in die rechte Arteria femoralis eingeführt. Der Blutdruck wird nach der Passage durch die Stromuhr mittels einer in die Leitung eingeschalteten ⊥-Röhre gemessen.

Nachdem alle hier genannten Operationen ausgeführt worden sind, wird die Aorta mittels einer Klemme unmittelbar vor dem Abgang von der Arteria subclavia sinistra zusammengeklemmt; dadurch wird also alles Blut aus der Aorta gezwungen, durch die Stromuhr zu passieren.

Wenn die Stromuhr im Gange ist, werden gleichzeitig eine Rhodannatriumlösung in den Katheter, der ins linke Herz hinabgeführt ist, und eine Kreatininlösung in die an der Kanüle der Carotis angebrachte Kugel injiziert, und gleichzeitig beginnt die Probeentnahme, während der von einem Assistenten die durch die Stromuhr strömende Blutmenge abgelesen wird.

Das Ergebnis eines solchen Versuches war:

Versuch 6.

Hund. Gewicht 11,5 kg. Gewicht des Herzens 118 g. Verfahren wie oben angeführt. Die Blutprobeentnahme dauerte 15 Sek. Die unten angeführten Zahlen entsprechen also 15 Sek., sie sind in Kubikzentimetern angegeben.

Versuch	Blut				Blut durch die Coronararterien	Blutdruck
	aus dem Herzen ccm	durch die Aorta ccm	durch die Stromuhr ccm	durch die Coronararterien ccm	%	mm
1	260,9	101,5	94,8	159,4	61,1	90
2	254,1	94,9	86,8	159,2	62,7	110
3	261,4	85,8	88,5	175,6	67,2	80
4	253,8	91,1	88,1	162,7	64,1	90
5	230,0	93,6	89,0	136,4	59,3	60
6	221,5	83,4	77,9	148,1	66,9	60

Aus den hier angeführten 6 Versuchen geht sehr deutlich hervor, daß bei der angegebenen Versuchsanordnung über die Hälfte — ca. 60 % — der Blutmenge, die von dem linken Ventrikel ausgesandt wird, durch die Coronararterien strömen, und daß nur der geringere Teil weiter geht und in die Stromuhr eintritt.

Die Übereinstimmung zwischen den einzelnen Versuchen ist, wenn man sich der komplizierten Verhältnisse und des schwankenden Blutdrucks erinnert, als eine besonders gute zu bezeichnen.

Ferner sieht man, daß die mittels der Stromuhr gefundenen Zahlen sehr gut mit den Zahlen übereinstimmen, die mittels der Kreatininbestimmungen berechnet worden sind. Die größte Divergenz bietet Versuch 2 dar, wo die Kreatininbestimmung jedoch nur ca. 9,3 % höher ist als die Stromuhrzahl. Meistens ergibt die Kreatininmethode eine ein wenig höhere Zahl als die Stromuhr; nur Versuch 3 bietet das entgegengesetzte Verhältnis dar.

Bevor ich zur Erörterung der Bedeutung des hier gewonnenen Resultats für die Beurteilung der Frage vom Verbrennungsprozeß in der Lunge übergehe, werde ich noch einen Versuch besprechen, der folgendermaßen ausgeführt wurde.

Versuch 7.

Hund. Gewicht 20 kg. Gewicht des Herzens 192 g. Versuchsmethode ganz wie beim vorigen Versuch; es wurden jedoch nur Rhodannatriuminjektionen, keine Kreatinininjektionen benutzt. Die Injektionen fanden daher abwechselnd über und unter den Aortaklappen statt, d. h. abwechselnd in den linken Ventrikel und die kleine Kugel der Carotiskanüle. Die Blutprobeentnahme dauerte 15 Sek. Vor Versuch 7, 8 und 10 wurde Adrenalin ins Blut injiziert.

Versuch	Blut					Blutdruck	Zeit
	durch das Herz ccm	durch die Aorta ccm	durch die Stromuhr ccm	durch die Coronararterien ccm	durch die Coronararterien %	mm	
1	261,5		109,9	151,6	58,0	30	11h 21′
2		8,9	87,9			15	11h 25′
3	222,5		86,3	136,3	61,2	15	11h 28′
4		89,1	85,1			15	11h 33′
5	217,4		76,2	141,2	65,0	15	11h 37′
6		86,7	81,9			14	11h 41′
7	346,3		162,6	183,7	53,0	75	11h 45′

Versuch	Blut durch das Herz ccm	Blut durch die Aorta ccm	Blut durch die Stromuhr ccm	Blut durch die Coronararterien ccm	Blut durch die Coronararterien %	Blutdruck mm	Zeit
8	373,0		160,1	212,9	57,1	80	11h 51′
9		115,9	135,4			30	11h 55′
10	344,8		143,3	201,5	58,4	95	12h 0′
11		109,0	118,7			30	12h 4′

Dieser Versuch zeigt ganz dasselbe wie Versuch 6. Die Blutmenge, die bei den gegebenen Verhältnissen durchs Herz passiert, ist sehr bedeutend, so daß zwischen 53 und 65 % des Blutes, das aus dem Ventrikel herausgesandt wird, durch die Coronararterien herausgeht und nur 35 bis 47 % durch die Stromuhr weiter in den Körper gehen. Ferner sieht man, daß die Stromuhrzahlen der angeführten Versuche (Nr. 2, 4, 6, 9 und 11) mit den durch Berechnung aus den Rhodannatriuminjektionen gefundenen Werten gut übereinstimmen.

Aus den hier angeführten Versuchen geht also deutlich hervor, daß man, wenn man den Aortabogen und alle dessen Zweige mit Ausnahme von einem sperrt und von diesem das Blut durch eine Stromuhr und wieder zum Körper zurückleitet, so abnorme Kreislaufverhältnisse im Organismus hervorbringt, daß ca. 60 % des Blutes aus dem linken Ventrikel durch die Coronararterien strömen und nur ca. 40 % weiter zur Stromuhr gehen. Es mag merkwürdig erscheinen, daß eine so große Blutmenge durch die Capillaren des Herzens passieren kann, aber nachdem wir durch Nußbaums oben erwähnte Arbeit die derivatorischen Kanäle des Herzens kennen gelernt haben, bietet das Verständnis des genannten eigentümlichen Verhältnisses keine Schwierigkeit mehr dar. Übrigens kann man sich leicht davon überzeugen, daß das Herz unter abnormen Verhältnissen sogar die ganze aus dem linken Ventrikel herausgetriebene Blutmenge aufzunehmen vermag.

Wenn man, nachdem das Blut bei den oben besprochenen Versuchen eine Zeitlang die Stromuhr passiert hat, den zur Stromuhr führenden Schlauch zusammenklemmt, muß selbstredend alles Blut in die Coronararterien hinausgetrieben werden. Man sieht dann, daß die im voraus stark erweiterten Coronar-

arterien ganz enorm ausgespannt werden, während die Contractionen des Herzens sich unverändert fortsetzen; oft nimmt die Anzahl der Contractionen zu, ohne daß das Schlagvolumen ersichtlich abnimmt. So habe ich das Herz noch 10 Minuten nach der Zusammenklemmung des zur Stromuhr führenden Schlauches schlagen sehen, und während der Zeit müssen enorme Mengen von Blut die Coronararterien passiert haben.

Fragt man sich nun: welche Bedeutung haben die gewonnenen Resultate für die Beurteilung der von Bohr und mir angestellten Untersuchungen, so ist dies am leichtesten ersichtlich, wenn man einen der Versuche betrachtet, bei denen der Verbrennungsprozeß in der Lunge sich als besonders groß herausstellte.

So sind z. B. bei Versuch 4 (s. Archives de Physiologie 1897, 597) in den 16 Minuten, die der Versuch dauerte, 7290 ccm Blut durch die Stromuhr passiert, während die Blutmenge durch die Coronararterien in derselben Zeit zu 1190 ccm berechnet wurde. Im ganzen sind also annehmbar 7290 ccm + 1190 ccm = 8480 ccm Blut aus dem linken Ventrikel ausgeströmt.

Ferner ergaben sich folgende Zahlen für ausgeschiedene Kohlensäure und aufgenommenen Sauerstoff, teils durch Respirationsversuche, teils durch Auspumpen von Blut aus bzw. dem linken Herzen und einer Arterie bestimmt.

	CO_2	O_2	Quotient
Während des Respirationsversuches . .	1357	1414	0,96
Anteil des Blutes	733	749	0,98
Differenz (Anteil der Lunge)	624 (54 %)	655 (54 %)	0,94

Das Resultat zeigt also, daß bei diesem Versuch ein sehr bedeutender Teil des Verbrennungsprozesses — 54 % — in der Lunge selbst stattgefunden hat.

Dies Resultat ist indessen nur richtig, wenn die Blutmenge, die während des Versuches die Coronararterien passierte. tatsächlich 1190 ccm betrug. Dies ist aber nicht der Fall. Nehmen wir an, daß 54 % der gesamten aus dem linken Ventrikel herausgetriebenen Blutmenge die Coronararterien passieren, was nach den oben angeführten Versuchen eine wahrscheinliche Menge wäre, so wird die ganze aus dem linken Herzen

ausgetriebene Blutmenge $\frac{100}{46} \cdot 7290 = 15\,848$ ccm betragen. Rechnen wir mit dieser Zahl statt mit der oben benutzten Zahl 7290, so haben wir folgendes Versuchsresultat:

	CO_2	O_2	Quotient
Während des Respirationsversuches . .	1857	1414	0,96
Anteil des Blutes	1371	1249	0,98
Differenz (Anteil der Lunge)	— 14	165	0,94

Wir sehen nun, daß der vermutete Verbrennungsprozeß in der Lunge, was die Kohlensäure betrifft, auf 0 reduziert wird, und was den Sauerstoff betrifft, auf ca. 12 % schwindet, eine Größe, der man der vielen Fehlermöglichkeiten wegen vielleicht kaum größeren Wert beilegen kann.

Wie das Verhältnis sich bei diesem Versuch stellt, ist es auch bei allen denjenigen Versuchen, in denen der Verbrennungsprozeß in der Lunge sich als sehr bedeutend herausgestellt hat; das Resultat meiner oben angeführten Versuche über die Blutmenge, die die Coronararterien nach Sperrung der Aorta mit gleichzeitig eingeschalteter Stromuhr passiert, ist dann folgendes:

Der von Bohr und Henriques früher vermutete bedeutende Verbrennungsprozeß in den Lungen findet sicherlich nicht in dem Umfang statt wie ursprünglich angenommen wurde. Ob überhaupt in der Lunge eine Verbrennung stattfindet, läßt sich noch nicht mit Sicherheit entscheiden.

Wenn erneuerte Untersuchungen mit verbesserten Methoden zeigen, daß — wie Bohr und ich gefunden haben — tatsächlich ein Unterschied besteht zwischen dem aus dem respiratorischen Stoffwechsel durch die Lungen berechneten respiratorischen Quotienten und dem aus den von und zur Lunge strömenden Gasen berechneten respiratorischen Quotienten, so ist damit erwiesen, daß in der Lunge eine gewisse Verbrennung stattfinden muß.

Zeigt es sich dagegen, daß ein solcher Quotientunterschied nicht vorliegt, so muß die ganze Lehre vom Verbrennungsprozeß in der Lunge fallen.

Ich werde in einer späteren Abhandlung auf diese Frage zurückkommen.

Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. (Zichorie).

III. Mitteilung.

Von

V. Grafe und V. Vouk.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität, Wien.)

(Eingegangen am 16. September 1913.)

In den beiden vorausgegangenen Mitteilungen[1]) haben wir versucht, ein Bild über die Wandlungen des Inulins und seine Beziehungen zu anderen Reservestoffen beim Auskeimen der Samen sowie über seine Neubildung und Wanderungen im Organismus der assimilierenden Pflanze bis zu seiner Speicherung im Reservedepot der Wurzel am Ende der ersten Vegetationsperiode zu gewinnen.

Es soll nunmehr auch über unsere Erfahrungen bei der Mobilisierung des Inulins im Verlaufe des zweiten Vegetationsjahres berichtet werden. Das Wurzelmaterial wurde teils in Stroh verpackt bei mittlerer Temperatur, teils der Kälte ausgesetzt aufbewahrt, teils blieb es im Boden des Versuchsbeetes, das uns in der Biologischen Versuchsanstalt in Wien zur Verfügung gestellt war, wofür wir auch hier wieder der Leitung dieser Anstalt unseren wärmsten Dank ausdrücken möchten, teils waren wir durch das dankenswerte Entgegenkommen der Herren Heinr. Franck Söhne, Linz a. D. in der Lage, überwinterte Wurzeln verschiedenster Provenienz aus Oberösterreich, Ungarn, Kroatien und Rumänien zu untersuchen.

Es zeigte sich zunächst, daß die Zichorienwurzel gegen Kälte relativ empfindlich ist, was zunächst nach der Theorie von Mez[2]), nach der in gelöster Form vorliegende Reserve-

[1]) V. Grafe und V. Vouk, diese Zeitschr. 43, 424; 47, 320, 1912.

[2]) C. Mez, Flora 94, 366, 1905; s. a. N. A. Maximow, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 30, 52, 504, 1912.

stoffe („thermisch aktiv") wie Kohlenhydratlösungen, Öle usw. gegenüber den in fester Form als Stärke u. dgl. abgelagerten („thermisch passiv") für die Pflanze einen Kälteschutz bedeuten, befremdlich erschien. Die bei Temperaturen knapp über dem Gefrierpunkt des Wassers gelagerten Wurzeln zeigten sich beim Anschnitt weniger saftig als normale, das Zellengewebe sah bei mikroskopischer Betrachtung z. T. wie verschrumpft aus, beim Zerhacken der Wurzel in kleine Stücke zeigte sich schon nach kurzer Zeit eine deutliche Braunfärbung, während für zerschnittene Zichorienwurzeln sonst eine schöne Lachsrotfärbung charakteristisch ist. Die chemische Analyse dieser Wurzeln ergab im Durchschnitt: 10,36 % Lävulose und 19,9 % Inulin, während in normalen Wurzeln durchschnittlich 4 bis 5 % Lävulose und ca. 60 % Inulin vorliegen. Bezüglich der Zuckeranhäufung verhält es sich hier ganz so wie bei den Kartoffelknollen, die bekanntlich auch bei leichter Winterkälte an Zuckergehalt auf Kosten ihrer Stärke zunehmen, während bei nachfolgendem mehrtägigen Lagern bei etwa + 10° der süße Geschmack wieder verschwindet[1]). Es war nun wünschenswert zu prüfen, ob und bis zu welchem Grade auch bei der Zichorie die Zuckeranhäufung bei Verweilen in normal temperierten Räumen rückgängig gemacht wird, ob also mit anderen Worten ebenso wie bei der Kartoffel der reversible Kondensationsprozeß eintritt. Zichorienwurzeln, die zum Überwintern vor Kälte geschützt aufbewahrt worden waren und die bei der Analyse einen Gehalt an reduzierendem Zucker von 5,7 % und einen Inulingehalt von 62,1 % zeigten, wurden 14 Tage im konstanten Eiskasten bei Temperaturen von 0° bis 1° gehalten. Eine andere Partie wurde zur Kontrollanalyse zurückbehalten und die kalt gestellten Wurzeln dann zum Teil im Keimkasten durch 14 Tage bei einer Temperatur von + 10° gehalten. Die Analyse ergab folgendes:

Gefrorene Wurzeln: Lebendgewicht 879 g, Trockengewicht 155,6 g, Wasser 82,3 %, reduzierender Zucker 9,76 %, Inulin 24,13 %, Gesamtstickstoff 6,12 %, Eiweiß 4,22 %.

Aufgetaute Wurzeln: Lebendgewicht 736 g, Trockengewicht 152,21 g, Wasser 79,32 %, reduzierender Zucker 6,12 %, Inulin 23,1 %, Gesamtstickstoff 5,97 %, Eiweiß 3,14 %.

---

[1]) Müller-Thurgau, Landwirtschaftl. Jahrb. 1882, 807.

Es ist also durch das Lagern bei normaler Temperatur der Zuckergehalt wieder auf das normale Maß zurückgegangen, der Inulinbetrag ist aber derselbe geblieben wie in den gefrorenen Wurzeln. Es ist also hier nicht so wie bei der Kartoffel, obwohl der physiologische Vorgang in beiden Fällen offenbar derselbe ist; die plasmatische Atmung wird durch die Kälte herabgesetzt, aber die Wirkung der hydrolysierenden und oxydierenden Enzyme nicht gehemmt, so daß nach und nach die große beobachtete Abnahme an Inulin sich ergibt. Es entsteht also fortwährend durch Hydrolyse des Inulins reduzierender Zucker, der durch Oxydation zu Kohlensäure und Wasser wird; diese Zerstörung von Inulin entspricht der Verschiebung eines Gleichgewichtes. Während unter normalen Verhältnissen synthetisierende und abbauende Faktoren einander das Gleichgewicht halten und so der Wurzelbestand an Kohlenhydraten erhalten bleibt, findet bei Temperaturerniedrigung eine Hemmung der synthetisierenden Vorgänge statt, so daß das Gleichgewicht nach der Seite des Abbaues hin verschoben wird; der gebildete Zucker wird verbrannt, und so ist nun Gelegenheit zum weiteren Abbau von Inulin vorhanden. Daß die oxydierenden Enzyme vorwiegend tätig sind, darauf deutet auch die beim Absterben sofort eintretende obenerwähnte Bräunung des Wurzelparenchyms, so daß die Annahme naheliegt, daß den Oxydasen hier auch beim Kohlenhydratabbau eine wichtige Rolle zufällt. Die abbauenden Prozesse gehen also desto ausgiebiger vor sich, je tiefer (bis zu einer gewissen Grenze) die Temperatur sinkt oder je länger die Wurzeln bei nicht so tiefen Temperaturen der Kälte ausgesetzt blieben. Neben der Veränderung im Kohlenhydratgehalt wurde auch die Abscheidung der Kohlensäure gemessen, deren Betrag sich in der Tat um so höher erwies, je mehr Zucker verschwunden war. Dagegen wurden die Eiweißstoffe durch die Kälte quantitativ nicht verändert.

Es war vorhin davon die Rede, daß Lösungen von Reservestoffen für die Pflanze einen gewissen Kälteschutz bedeuten, da hierdurch der Zellsaft auf tiefere Temperaturen unterkühlt werden kann ohne zu gefrieren. Nun besteht das Erfrieren von Pflanzenzellen nach der Theorie von Molisch[1]) im Wasser-

---

[1]) H. Molisch, Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen. Jena 1897. — Derselbe, Flora 1907.

entzug, so daß der Lösung schon bei Temperaturen über dem Eispunkt Wasser entzogen wird. Nun kann aber konzentrierten Lösungen durch die Kälte um so schwerer Wasser entzogen werden, je konzentrierter sie sind, darauf beruht ja die Möglichkeit des „Unterkühltwerdens" solcher Lösungen und ebendarauf beruht auch der Kälteschutz, den sie den Pflanzengeweben bieten. Im Falle der Zichorie ist aber gerade durch diesen Kälteschutz eine Verarmung an dem Reservestoff Inulin gegeben, denn da einerseits das Wasser zähe festgehalten, andererseits die enzymatische Hydrolyse nicht gehemmt wird, bewirkt gerade die festgehaltene Gegenwart des Lösungswassers, daß die Hydrolyse, zu der ja Wasser notwendig ist, ungestört vor sich gehen kann. Angenommen, es wäre in den Zellen statt der Inulinlösung feste Stärke oder festes Inulin vorhanden, dann würde nahe unter 0° das Wasser austreten, es würde sich Eisbildung einstellen und das Wasser für eine etwaige Hydrolyse verloren sein. Aus diesem Grunde werden auch stärkehaltige Kartoffeln vorwiegend bei + 1° bis 2° süß, nicht bei Kältegraden, bei denen eben das Wasser zu Eis geworden und für die Hydrolyse nicht mehr disponibel ist. Nach einer Kältebehandlung von — 5° fanden sich im mikroskopischen Schnitte die einzelnen Zellen mit zahlreichen Inulinsphäriten besetzt, Hand in Hand damit trat keine Abnahme von Inulin und keine verstärkte Kohlendioxydabscheidung mehr ein; von dem Moment an, wo der thermisch aktive Kälteschutz durch die Inulinlösung aufhört, findet also eine Konservierung des Reserveinulins statt.

Die bezüglichen Analysenzahlen sind in der folgenden Tabelle wiedergegeben und entsprechen dem Mittel aus je drei Analysen:

Wurzeln bei Temperaturen von °C	Lävulose in % nach Kälte-Exposition von				Inulin in % nach Kälte-Exposition von			
	5	10	14	21	5	10	14	21
	Tagen				Tagen			
+ 15	6,23	6,71	6,10	5,98	62,30	60,00	61,98	60,72
+ 10	6,03	6,61	5,97	6,22	62,00	61,73	61,65	62,22
+ 5	5,99	7,38	7,98	8,35	55,00	51,60	45,33	40,00
+ 3	6,77	8,92	9,00	9,24	49,11	38,70	35,32	28,67
+ 1	7,87	9,33	10,00	10,54	45,20	34,31	25,66	20,00
0	8,39	10,21	10,32	9,68	48,87	39,31	30,00	15,86
— 2	10,53	11,82	11,00	10,66	38,63	24,89	19,98	12,11
— 5	10,00	9,89	10,22	10,77	15,32	14,78	14,33	13,21
— 7	9,11	9,65	9,33	9,00	13,67	13,00	12,99	12,57

Beim Austreiben der Wurzel wird zunächst, wie zu erwarten stand, das Reserveinulin mobilisiert und verwandelt sich sukzessive mit dem Verbrauche des reduzierenden Zuckers in Lävulose. Überwinterte Wurzeln wurden in geräumigen Töpfen in Gartenerde gesteckt und im Warmhaus stehen gelassen. Die Analyse der Wurzel ergab folgende Daten:

Datum 1913	Zustand der Wurzel	Lävulose %	Inulin %
25. II.	Normal überwintert	4,32	60,28
1. III.	Keine Vegetationspunkte zu sehen . .	12,60	40,32
8. "	Blätter im Perizykel hervortretend .	14,31	35,72
25. "	Blätter ca. 20 cm lang (im Dunkeln) .	7,53	37,33
1. IV.	" " 20 " " (" ") .	6,88	32,76
1. III.	Untere Hälfte der Wurzel	13,50	21,40
1. "	Obere " " "	10,80	16,80

Wie man sieht, findet also die Hydrolyse des Inulins schon statt, ehe noch neuangelegte Teile zu sehen sind, und zwar hier sogar in ganz besonders hohem Maße, offenbar deshalb, weil der Reservezucker eine Umwandlung in Baustoffe der Pflanze erfährt, wodurch wieder für erneute Inulinhydrolyse Raum geschaffen ist. Die Vermehrung an Monose und Abbau von Inulin geht aber nur so lange vor sich, bis die Blätter hervortreten, die den gebildeten Zucker für sich veratmen, während die Inulinhydrolyse zu sistieren scheint; im weiteren Verlaufe schreitet diese zwar wieder vorwärts, aber eine Vermehrung der Lävulose findet nicht weiter statt. In diesem Falle ergibt sich auch aus der Analyse des oberen und des unteren Teiles der Wurzel, daß das zum Verbrauche bestimmte Inulin nicht als solches in die Blätter wandert, sondern vorher schon in der Wurzel hydrolysiert wird, während ein Teil der gebildeten Lävulose schon auf dem Wege nach aufwärts verbraucht oder umgewandelt wird. Naturgemäß wird sich ein größerer Teil des reduzierenden Zuckers bei der Kultur im Dunkeln in den Blättern ansammeln, so daß etiolierte Blätter einen relativ größeren Zuckergehalt aufzuweisen haben, während die grünen Blätter von im Lichte austreibenden Pflanzen selbst bei der Assimilation Inulin zu bilden imstande sind, resp. dieses Polysaccharid aus primär entstandener Lävulose kondensieren und daher einen höheren Inulingehalt zeigen. Allerdings ist es auch

möglich, daß es zwischen dem als Zucker aus der Wurzel aufwärtsstrebenden und dem aus den Blättern abwärtswandernden Inulin zu einer Stauung kommt, die nach den Gleichgewichtsgesetzen zu einer Speicherung von Inulin in den Blättern führt. Um diese Verhältnisse zu überblicken, wurden Parallelserien von Analysen mit den Blättern von Licht- und Dunkelpflanzen einerseits und den dazugehörigen Wurzeln andererseits zu verschiedenen Zeitpunkten ihrer Entwicklung unternommen.

	Alter in Tagen			Lävulose %	%	%	Inulin %	%	%
Etiolierte Blätter . .	10	20	30	19,1	17,6	8,2	2,7	3,1	2,5
Wurzeln etiolierter Pflanzen	10	20	30	7,9	6,5	4,8	40,3	28,9	17,2
Grüne Blätter d. Lichtpflanzen	10	20	120	4,2	3,9	4,1	6,5	8,8	7,7
Wurzeln der Lichtpflanzen	10	20	120	5,6	5,9	6,1	41,1	37,6	35,6
Mesophyll der Lichtblätter für sich . .		120			2,3			7,8	
Mittelrippe der Lichtblätter für sich . .		120			5,9			3,4	

Wir haben in unserer vorigen Mitteilung gezeigt, daß die Ableitung des durch Assimilation in den Blättern gebildeten Inulins nicht, wie man sich das bei der Stärke vorstellt, bei Nacht, sondern auch bei Tage erfolgt, so daß auch bei den am Morgen gesammelten Blättern eine erhebliche Menge Inulin und ebenso wie bei den Tagesblättern ein Gleichgewichtsverhältnis zwischen Lävulose und Inulin gefunden wurde. Ja, es ergab sich sogar, daß die Ableitung des Inulins bei Nacht eingeschränkt oder überhaupt sistiert ist, offenbar, weil in Übereinstimmung mit den Befunden A. Tröndles dem Lichte eine hohe Bedeutung für die Permeabilität der Plasmamembran zukommt. Da das Inulin im Gegensatz zur Stärke ein lösliches Assimilationsprodukt ist, so kann eben das Inulin im Gegensatze zur unlöslichen Stärke sofort nach seiner Entstehung abströmen und kann sich nicht wie die Stärke anhäufen. Es lag nun nahe, diese Verhältnisse auch bei einer Stärkepflanze zu überprüfen; denn man hat sich mit Rücksicht auf den negativen Ausfall der Jod-Stärkereaktion in den am Morgen gesammelten Blättern die Anschauung gebildet, daß die am Tage durch Assimilation gebildete Stärke, von der bekanntlich

die Blätter am Nachmittag eines schönen, warmen Sommertages strotzen, während der Nacht durch den Blattstiel abgeleitet werde, so daß die Blätter am Morgen stärkefrei sind. In Analogie mit unseren Befunden an der Zichorie wurden große, ausgewachsene Blätter von Phaseolus vulgaris und von Vicia faba am Morgen und am Nachmittag im Sommer auf ihren Zuckergehalt untersucht[1]).

Blätter von Phaseolus vulgaris:

	6^h p. m. gesammelt		6^h a. m. gesammelt	
	Mittelrippe	Parenchym	Mittelrippe	Parenchym
Reduz. Zucker	0,89 %	0 %	8,76 %	4,21 %

Blätter von Vicia faba:

	6^h p. m. gesammelt		6^h a. m. gesammelt	
	Mittelrippe	Parenchym	Mittelrippe	Parenchym
Reduz. Zucker	0,54 %	0,11 %	3,98 %	3,65 %

Es ergibt sich also aus diesem Versuche, der übrigens noch in größerem Maßstabe durchzuführen sein wird, daß der Gehalt an reduzierendem Zucker sich bei Nacht auffallend erhöht, so daß die Blätter von Phaseolus vulg. am Morgen fast 10mal so zuckerreich sind wie am Tage, daß also bei Nacht durchaus keine verstärkte „Ableitung" der Stärke stattfindet, sondern höchstens deren Hydrolyse zu reduzierendem Zucker, der sich aber in den Blättern so anhäuft, daß man kaum von einer verstärkten Ableitung bei Nacht sprechen, sondern diese eher als zurückgehalten ansehen wird. Ähnliche Erfahrungen deutet auch Bellucci[2]) an, wenn er findet, daß in der Nacht die Menge der Stärke viel schneller abnehme als die Menge des Zuckers.

Wir möchten unsere bisherigen, in drei Mitteilungen dargelegten Erfahrungen über den Inulinstoffwechsel der Zichorie folgendermaßen zusammenfassen:

Der Samen der Zichorie enthält als Reservestoffe Inulin und Fett, die miteinander durch ähnliche Beziehungen verbunden sind, wie das sonst zwischen Stärke und Fett der Fall ist, d. h. die beiden gehen wechselseitig ineinander über, bei

[1]) Die Blätter stammten von Freilandpflanzen. Einwandfreie Ergebnisse in dieser Frage sind unserer Auffassung nach überhaupt nur im Hochsommer und mit Freilandpflanzen zu gewinnen.

[2]) G. Bellucci, Just.-Jahresbericht 1888, S. 35.

der Keimung entsteht aus dem Reservefett Inulin. Die Quantität des Gesamt- und Eiweißstickstoffs im Samen erleidet bei der Keimung nur geringe Veränderungen; der Gesamtstickstoff erhöht sich zu Beginn der Keimung ein wenig, während der Eiweißstickstoff plötzlich abnimmt, beide halten sich aber im weiteren Verlaufe der Keimung fast konstant, während der Fettgehalt eine stark fortschreitende Abnahme, die Inulinmenge eine ebensolche Zunahme zeigt; die Menge der freien Fettsäuren ist während des ganzen Prozesses Schwankungen unterworfen und nimmt unregelmäßig zu und ab. Die makrochemische Analyse ergibt eine bedeutende Zunahme des Inulins in den Blättern während der Kohlensäureassimilation, das Inulin wird jedenfalls nicht, wie man sich vielfach vorgestellt hat, erst durch Kondensation der in die Wurzel einwandernden Monose als Aufstapelungsprodukt gebildet, sondern entsteht schon analog der Bildung autochthoner Stärke während der Assimilation. Da wir aber heute noch keine Möglichkeit besitzen, das gelöste Inulin im Blatte mikrochemisch eindeutig nachzuweisen, müssen seine Beziehungen zum Chloroplasten vorläufig noch als unentschieden betrachtet werden. Jedenfalls sind Beträge von 3 bis 4 % Inulin in assimilierenden Blättern keine Seltenheit, so daß man das Inulin in den Blättern durch Einlegen derselben in starken Alkohol in den Zellen in Form von Sphäriten auskrystallisieren sehen kann. Die Jodprobe ergibt in Zichorienblättern nach der Assimilation niemals das Auftreten von Stärke, sondern es zeigen sich in den Chloroplasten ganz sporadisch kleinkugelige Einschlüsse, die sich mit Jod braun färben und vielleicht als physiologische und chemische Übergangsglieder zwischen Inulin und Stärke zu betrachten sind, was um so näher liegt, als der überaus leichte Übergang von Lävulose in Dextrose und umgekehrt bekannt ist, so daß auch Übergangsglieder auf dem Kondensationswege der beiden Monosen wahrscheinlich sind. In der Wurzel treten niemals Stärke oder dextrinartige Kondensationsprodukte, sondern stets Inulin auf.

Ein Unterschied im Inulin- und Lävulosegehalt von zu verschiedenen Tages- und Nachtzeiten gesammelten Blättern konnte nicht konstatiert werden, es zeigte sich vielmehr, daß die bei der Assimilation neu gebildeten Kohlenhydrate fortdauernd Tag und Nacht aus dem Blatte auswandern und daß

die Ableitung des gelösten Inulins, offenbar infolge seiner durch das Licht erhöhten Diffusionsfähigkeit, bei Tage die nächtliche Auswanderung überwiegt. Eine Ausdehnung der diesbezüglichen Untersuchungen auf Stärkepflanzen ergab, daß auch bei diesen nicht von einer bei Nacht in erhöhtem Maßstabe oder gar ausschließlich stattfindenden Auswanderung der Assimilationsstärke gesprochen werden kann, wohl aber von einer nächtlichen Hydrolyse der Stärke in Zucker; denn da bei Nacht keine assimilatorische Neubildung stattfindet, geht eben der auch bei Tage fortdauernd eintretende Prozeß der Stärkelösung ausschließlich vor sich, so daß das Gleichgewicht Stärkebildung—Stärkelösung bei Tage nach der Richtung Stärkebildung, bei Nacht nach der Richtung Stärkelösung verschoben erscheint. Unabhängig davon aber findet Tag und Nacht der Prozeß der Kohlenhydratableitung statt, und zwar, wie es scheint, auch hier bei Tage in erhöhtem Maße.

Mit fortschreitender Entwicklung der Wurzel zeigt sich eine fortdauernde Anreicherung derselben an Inulin, wobei die Vorgänge der Kondensation von Lävulose zu Inulin in der Wurzel den Gesetzen der physiologischen Gleichgewichte gehorchen.

Das im Zellsaft gelöste Inulin bedeutet für die Wurzel einen „thermisch-aktiven" Kälteschutz. Unsere Untersuchungen ergaben auf chemischem Wege eine Bestätigung der Theorie von Molisch, nach der bekanntlich das Erfrieren der Pflanzen auf Wasserentzug beruht und mit dem Verwelken in Parallele zu setzen ist. Denn ein Erfrieren findet bei der Zichorienwurzel solange nicht statt, als der gesättigte Inulinlösung führende Zellsaft nicht gefriert, was erst bei relativ niederen Temperaturgraden der Fall ist. So lange findet aber auch eine fortdauernde Hydrolyse des Inulins, zu der das zähe festgehaltene Lösungswasser dient, und gesteigerte Veratmung der gebildeten Lävulose statt. Erst wenn es schließlich zum Gefrieren des Zellsaftes kommt und das Wasser dadurch „gebunden" wird, sistiert die weitere Hydrolyse und Abnahme von Inulin, und es findet im weiteren Verlaufe Erfrieren statt.

Über eine quantitative Tryptophanbestimmungsmethode.

Von

E. Herzfeld.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik Zürich.)

(Eingegangen am 17. September 1913.)

Bei den Fütterungsversuchen mit vollständig abgebautem Eiweiß haben Hopkins, Henriques sowie E. Abderhalden[1]) und seine Mitarbeiter gefunden, daß abgebaute Eiweißkörper, denen das Tryptophan weggenommen wurde, eine negative Stickstoffbilanz verursachten. Dagegen gelang es, mit Eiweißkörpern, bei denen die fehlenden Bausteine, namentlich Tryptophan, ersetzt wurden, eine wirksame Ernährung durchzuführen. Aus diesen Ergebnissen scheint hervorzugehen, daß das Tryptophan ein unentbehrlicher Baustein der echten, physiologisch wirksamen, d. h. den Eiweißbedarf des Körpers deckenden Eiweißkörper ist. Aus diesem Grunde gewinnt die Frage über den Tryptophangehalt der Eiweißkörper an Bedeutung. Unsere diesbezüglichen Kenntnisse sind sehr beschränkt und sind aus folgender Zusammenstellung ersichtlich.

Eiweißkörper	Tryptophan	Forscher
Milchalbumin	0,7 %	Winterstein u. Strickler[2])
Lactalbumin	3,07 %	H. Fasal[3])
Edestin (Ölsamen) . . .	0,38 %	H. Fasal
Casein	0,53 %	Abderhalden u. Kempe[4])

[1]) E. Abderhalden und Mitarbeiter, Zeitschr. f. physiol. Chem. **42**, **44**, **47**, **51**, 52, **54**, **57**, **59**, **61**, **63**, **64**, **65**, **67**, **68**, **76**, 1904 bis 1912.

[2]) E. Winterstein und Strickler, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**, 58, 1906.

[3]) H. Fasal, diese Zeitschr. **44**, H. 5 bis 6, 392, 1912.

[4]) E. Abderhalden und Kempe, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**, 208, 1907.

Eiweißkörper	Tryptophan	Forscher
Casein	0,65 %	H. Fasal
Casein	2,00 %	Hopkins u. Cole [1]
Gliadin (Weizenkorn) . .	ca. 1,00 %	Abderhalden u. Samuely [2]

Bei seinen Tryptophanstoffwechselversuchen hat Verfasser eine exakte Tryptophanbestimmungsmethode gesucht, und hierbei gelang es ihm, die zu beschreibende Methode auszuarbeiten.

Zum qualitativen Tryptophannachweis sind bisher folgende Methoden bekannt:

1. Nach Tiedemann und Gmelin [3]) geben Brom- oder Chlorwasser mit Tryptophanlösungen eine rote bis rotviolette Färbung oder Ausfällung, die in Amylalkohol löslich ist. Mit Überschuß von Halogen verschwindet die Färbung. Die größte Farbenintensität wird nach Neuberg [4]) erreicht, wenn auf 1 Mol. Tryptophan 4 Atome Halogen kommen. Die Reaktion gibt nur freies Tryptophan, nicht das in Peptiden gebundene (Abderhalden und Kempe [5]). Nach Neuberg läßt sich eine erhebliche Verschärfung der Reaktion durch Ausschütteln mit alkoholhaltigem Essigester erreichen.

2. Die Reaktionen von Adamkiewicz und Liebermann [6]) sind nach Hopkins und Cole [7]) einem Gehalt der Essigsäure an Glyoxylsäure zuzuschreiben. Man fügt zu einer Lösung ganz verdünnte Glyoxylsäurelösung und konz. Schwefelsäure, worauf eine blauviolette Färbung noch bei einer Verdünnung von 1 : 200 000 auftritt.

3. Die Xanthoproteinreaktion. Verdünnte wässerige Tryptophanlösungen zeigen beim Kochen mit konz. Salpetersäure deutliche Gelbfärbung [8]).

4. Mit Millons Reagens gekocht entsteht eine rotbraune Färbung.

5. Eine konz. Tryptophanlösung gibt mit einem in Salzsäure getauchten Fichtenspan die Pyrrolrektion.

6. Reaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd [9]). Versetzt man nach E. Rohde eine Tryptophanlösung mit ein wenig schwach schwefel-

---

[1]) F. G. Hopkins und S. W. Cole, Journ. of Physiol. 27, 418, 1901.

[2]) E. Abderhalden und F. Samuely, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 276, 1905.

[3]) Tiedemann und Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg und Leipzig 1826.

[4]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 2, 369, 1906; 6, 278, 1907; 24, 423, 1910.

[5]) Abderhalden und Kempe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 207, 1907.

[6]) Adamkiewicz, Arch. f. d. ges. Physiol. 9, 156, 1874.

[7]) Hopkins und Cole, Proc. Roy. Soc. 68, 21, 1901.

[8]) Abderhalden und Kempe, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 212, 1907.

[9]) E. Rohde, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 161, 1905.

saurer Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd und dann mit einer größeren Menge konz. Säure (bei freiem Tryptophan am besten Salzsäure, bei den Eiweißkörpern dagegen Schwefelsäure), so zeigt die Lösung eine schöne rotviolette Farbe, die nach kurzer Zeit einen prachtvoll dunkelvioletten Ton annimmt; bei zu großem Zusatz konz. Schwefelsäure wird sie schmutziggrün, um bei Wasserzusatz wieder zu erscheinen. Im Spektrum ist bei Verwendung von Schwefelsäure wie auch Salzsäure regelmäßig ein ziemlich breiter, verwaschener Absorptionsstreifen im Orange zu sehen; ein zweiter Streifen findet sich im Grün, ist aber sehr undeutlich.

7. Auch mit Vanillin und p-Nitrobenzaldehyd reagiert das Tryptophan; mit Vanillin entsteht eine rote, mit p-Nitrobenzaldehyd eine grüne Farbe.

Laut bisherigen Angaben soll eine direkte quantitative Bestimmung des Tryptophans nur annäherungsweise ausführbar sein, da man bei Eiweißzersetzungen meist nur sehr geringe Mengen der leicht veränderlichen Verbindung erhält.

1. Levene und Rouiller[1]) beschrieben eine quantitative Bestimmungsmethode, die darauf beruht, daß die durch Bromwasser hervorgerufene Rotfärbung einer Tryptophan enthaltenden Lösung nach Erreichung des Sättigungszustandes durch einen Überschuß an Brom sofort wieder verschwindet.

2. Osborne und Harris[2]) schätzten den Tryptophangehalt verschiedener Proteine nach der Intensität der Reaktion von Adamkiewicz.

3. Neuerdings hat H. Fasal[3]) eine colorimetrische Tryptophanbestimmungsmethode ausgearbeitet, der die Adamkiewicz-Hopkinssche Probe mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure zugrunde liegt. Verglichen wurde jeweilen mit der Färbung wässeriger Lösungen von reinem Tryptophan.

Die Methoden, bei denen das aus dem Tryptophan durch bakterielle Zersetzung erhaltene Indol bestimmt wird und daraus das Tryptophan berechnet, führen zu keinen einheitlichen Resultaten.

Die vom Verfasser zu beschreibende Methode ist eine colorimetrische und spektrophotometrische Ausarbeitung der von Rohde beschriebenen Tryptophanreaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd. Rohdes Beobachtung möchte Verfasser insofern ergänzen, daß Tryptophanlösungen mit p-Dimethylaminobenzaldehyd und konz. Salzsäure nicht nur eine rote und schließlich rotviolette Färbung geben, sondern daß nach meh-

[1]) Levene und Rouiller, diese Zeitschr. 4, 322, 1907.
[2]) Osborne und Harris, Zeitschr. f. analyt. Chem. 43, 376, 1904.
[3]) H. Fasal, diese Zeitschr. 44, H. 5 bis 6, 392, 1912.

reren Stunden eine konstante Blaufärbung entsteht. Die Reaktion ist der von A. Schmidt[1]) und Blumenthal[2]) für Skatol angegebenen ähnlich. Auch mit einer Skatollösung entsteht auf Zusatz von p-Dimethylaminobenzaldehyd und Salzsäure eine rote, später violette und schließlich blaue Farbe. Nur ist dieser blaue Farbstoff in Chloroform leicht löslich, dagegen der vom Tryptophan darin unlöslich.

Die Vorversuche ergaben, daß die Reaktion nach etwa 25 bis 30 Stunden beendigt war, ohne eine Abnahme der Farbenintensität, und daß sie am günstigsten unter folgenden Bedingungen ausführbar ist.

Reagenzien: 1. 20 g p-Dimethylaminobenzaldehyd,
500 ccm konz. Salzsäure,
500 ccm Wasser.
2. Konzentrierte Salzsäure.

Zu 50 ccm der zu prüfenden Tryptophanlösung setzt man 10 ccm der Aldehydlösung und bis 100 ccm der konz. Salzsäure, läßt etwa 30 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, worauf dann eine Blaufärbung auftritt. Es ist empfehlenswert, zur Kontrolle eine Probe mit 2 bis 5 fach verdünnten Tryptophanlösungen anzustellen. Schon eine Tryptophanmenge von 0,0001 g in 100 ccm erzeugt eine deutliche blaue Farbe, was einer Verdünnung von 1 : 1 000 000 entspricht.

Zunächst sollte obige Reaktion zu colorimetrischen Zwecken ausgearbeitet werden, wodurch zwar nur eine annähernde, aber einfache Bestimmung ermöglicht wird. Um eine zugängliche Vergleichslösung zu finden, wurden mit ammoniakalischen Kupferlösungen verschiedener Konzentration Versuche angestellt. Hierbei konnte festgestellt werden, daß man sich am besten eine Vergleichslösung wie folgt bereitet. 1 g geglühtes Kupfersulfat in 100 ccm Wasser gelöst, davon genau 1 ccm abgemessen, mit etwa 20 ccm Ammoniak versetzt und mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt gibt eine blaue Lösung, die der Blaufärbung, die von 0,0001 g Tryptophan und salzsaurem p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugt wurde, gleichgestellt werden konnte. Nahm man die

---

[1]) A. Schmidt, Münch. med. Wochenschr. 50, 721, 1903.

[2]) Blumenthal, diese Zeitschr. 19, 521, 1909.

10fache Tryptophanmenge, also 0,001 g, so entstand eine Blaufärbung, die sich im Colorimeter fast genau 10mal so stark erwies, als die obenerwähnte ammoniakalische Kupfervergleichslösung.

Um genaue Werte für Tryptophan zu erhalten, wurde folgende spektrophotometrische Methode ausgearbeitet. Das Prinzip ist dasselbe wie oben beschrieben, nur wurde die erhaltene blaue Lösung spektrophotometrisch untersucht. Zunächst sollte entschieden werden, ob der Extinktionskoeffizient der Tryptophanmenge proportional ist.

1. 0,0001 g Trytophan in 50 ccm Wasser + 10 ccm p-Dimethylaminobenzaldehyd, auffüllen bis 100 ccm mit konz. Salzsäure und etwa 30 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen. Hierauf wurde Röhre I (rechts) des Spektrophotometers mit der blauen Lösung und Röhre II (links) mit dem Gemisch von 50 ccm H_2O + 10 ccm Reagens + 40 ccm konz. HCl gefüllt und „α_2" abgelesen; beim Austausch der Röhren konnte „α_1" abgelesen werden. Da die Schichtdicke „d" (Röhrenlänge) bekannt war, konnte der Extinktionskoeffizient „ε" wie folgt berechnet werden, und daraus die Konstante:

$$\varepsilon = \frac{\log \operatorname{tg} \alpha_1 - \log \operatorname{tg} \alpha_2}{d}.$$

Schichtdicke gleich 5 cm bei allen Versuchen.

Mittelwerte zweier Bestimmungen $\begin{cases} \alpha_1 = 51^\circ \\ \alpha_2 = 35^\circ\ 24' \end{cases}$ $\varepsilon = 0{,}0479$

2. 0,0002 g Tryptophan wie oben (2 Versuche).
$\alpha_1 = 58^\circ\ 12'$
$\alpha_2 = 29^\circ\ 48'$ $\varepsilon = 0{,}0899$

3. 0,0003 g Tryptophan wie oben (2 Versuche).
$\alpha_1 = 66^\circ\ 24'$
$\alpha_2 = 26^\circ\ 48'$ $\varepsilon = 0{,}1312$

4. 0,0005 g Tryptophan wie oben (2 Versuche).
$\alpha_1 = 76^\circ$
$\alpha_2 = 16^\circ\ 24'$ $\varepsilon = 0{,}2228$

5. 0,001 g Tryptophan wie oben (1 Versuch).
$\alpha_1 = 84^\circ\ 48'$
$\alpha_2 = 5^\circ\ 12'$ $\varepsilon = 0{,}4164$

Mit den 2, 3, 5 und 10fachen Tryptophanmengen sollten auch die Extinktionskoeffizienten 2, 3, 5 und 10fach steigen. Folgende Zusammenstellung zeigt diese ziemlich gut stimmende Proportionalität.

1. $\varepsilon = 0{,}0479$
2. $\varepsilon = 2 \cdot 0{,}0449$
3. $\varepsilon = 3 \cdot 0{,}0437$
4. $\varepsilon = 5 \cdot 0{,}0446$
5. $\varepsilon = 10 \cdot 0{,}0416$

Hieraus ist der Mittelwert für $\varepsilon = 0{,}0445$; in einer Verdünnung von 1 : 1000000.

Die Konstante für alle Verdünnungen läßt sich aus folgender Gleichung berechnen:

$0{,}0001 : 0{,}0445 = x : \varepsilon$ $\quad x =$ die unbekannte Tryptophanmenge,

$x = \varepsilon \cdot \frac{0{,}0001}{0{,}0445} = \varepsilon \cdot 0{,}00225$ $\quad \varepsilon =$ der zu bestimmende Extinktionskoeffizient.

Die Konstante beträgt also $= 0{,}00225$. Multipliziert man mit dieser Zahl den von der unbekannten Tryptophanmenge erhaltenen Extinktionskoeffizienten, so ergibt sich das gesuchte Tryptophan.

Um den Tryptophangehalt des Eiweißkörpers zu bestimmen, verfährt man in folgender Weise: Man verarbeitet stets 1 g von dem Eiweißkörper, indem man vorher mit absolutem Alkohol wäscht, trocknet, dann in 500 ccm 0,5⁰/₀iger Na_2CO_3-Lösung auflöst, 0,5 g Pankreatin, dessen Tryptophangehalt vorher bestimmt wurde, hinzufügt, mit Chloroform unterschichtet und mit Xylol überschichtet und 24 Stunden im Brutschrank stehen läßt. Hierauf nimmt man von der abgekühlten Verdauungsflüssigkeit genau den 10. Teil, also 50 ccm, setzt 10 ccm p-Dimethylaminobenzaldehydlösung und 40 ccm konz. Salzsäure und läßt etwa 30 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Die entstandene blaue Lösung wird durch ein Doppelfilter filtriert und colorimetrisch oder spektrophotometrisch untersucht.

Bei der Untersuchung von Lösungen muß zunächst auf Indol geprüft werden (Destillieren), ist welches zugegen, so muß es durch Verdampfen entfernt werden. Es muß hervorgehoben werden, daß nur farblose Eiweißkörper bzw. deren Lösungen, oder solche nach obiger Methode untersucht werden können, bei denen der Farbstoff leicht entfernt werden kann (abs. Alkohol).

Es mögen nun als Beispiele einige Versuche angeführt werden, bei denen sowohl eine spektrophotometrische wie auch eine colorimetrische Tryptophanbestimmung vorliegt, um zu

sehen, wie weit diese Methoden übereinstimmen. Zunächst sollte das zur Verwendung gelangende Pankreatin untersucht werden.

1. 0,5 g **Pankreatin** wurden in 50 ccm Wasser gelöst, dann mit 10 ccm p-Dimethylaminobenzaldehydlösung und 40 ccm konz. Salzsäure versetzt, mit Chloroform unterschichtet, mit Xylol überschichtet und etwa 30 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die entstandene blaue Lösung wurde durch ein Doppelfilter filtriert und das klare Filtrat spektrophotometrisch uud colorimetrisch untersucht.

$\alpha_1 = 67^\circ\ 48'$ $\varepsilon = 0{,}1150$
$\alpha_2 = 33^\circ\ 6'$ Tryptophan in 0,5 g Pankr. = 0,00026 g
" " 1 g " = 0,00052 g
" " 100 g " = 0,052 %.

Colorimetrisch:

Stand der Kupferlösung: Stand der zu prüfenden Lösung:
100 36

$\frac{100}{36} \cdot 0{,}0001 = 0{,}0002777$ $T_{0,5} = 0{,}000278$ g
$T_1 = 0{,}000556$ g
$T_{100} = 0{,}056\,\%$.

2. 0,5 g **Pankreatin** wie oben.

$\alpha_1 = 68^\circ$ $\varepsilon = 0{,}1145$
$\alpha_2 = 33^\circ\ 30'$ $T_{0,5} = 0{,}000258$ g
$T_1 = 0{,}000516$ g
$T_{100} = 0{,}0516\,\%$.

Colorimetrisch:

100 35 $T_{0,5} = 0{,}000286$ g
$\frac{100}{35} \cdot 0{,}0001 = 0{,}000286$ $T_1 = 0{,}00057$ g
$T_{100} = 0{,}057\,\%$.

Ferner wurden je 1 g Casein, Hühnereiweiß und Edestin mit 0,5 g Pankreatin in 500 ccm 0,5 %ige Na_2CO_3-Lösung (Chloroform und Xylol) verdaut und ebenso weiterverarbeitet wie oben beschrieben.

3. 1 g **Casein** + 0,5 g Pankreatin + 500 ccm 0,5 % Na_2CO_3 12 Stunden stehen gelassen. Hiervon nach dem Abkühlen 50 ccm + 10 ccm Reagens + 40 ccm konz. HCl nach 30 Stunden wie oben untersucht.

$\alpha_1 = 77^\circ\ 36'$ $\varepsilon = 0{,}2418$
$\alpha_2 = 15^\circ\ 42'$ Tryptophan in der verarbeiteten Menge = 0,000544 g
" " 1 g Casein = 0,00544 g
Nach Abzug der Tryptophanmenge von 5 g Pankreatin = 0,00518 g
Tryptophan = 0,52 %.

Colorimetrisch:

100 18
$\frac{100}{18} \cdot 0{,}0001 = 0{,}0005555$ $T_{i,v} = 0{,}000556$ g
$T_1 = 0{,}00556$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}0053$ g
$T = 0{,}53\,\%$.

4. 1 g **Casein** wie oben.

$\alpha_1 = 76^\circ\ 48'$ $\varepsilon = 0{,}2397$
$\alpha_2 = 15^\circ\ 6'$ $T_{i,v} = 0{,}000539$ g
$T_1 = 0{,}00539$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00513$ g
$T = 0{,}51\,\%$.

Colorimetrisch:

100 19

$\frac{100}{19} \cdot 0{,}0001 = 0{,}000526$

$T_{i,v} = 0{,}000526$ g
$T_1 = 0{,}00526$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}0050$ g
$T = \mathbf{0{,}50}\ \%$.

5. 1 g **Hühnereiweiß** wie oben.

$\alpha_1 = 76°\ 42'$
$\alpha_2 = 13°\ 48'$

$s = 2472$ g
$T_{i,v} = 0{,}000556$ g
$T_1 = 0{,}00556$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}0053$ g
$T = \mathbf{0{,}53}\ \%$.

Colorimetrisch:

100 17

$\frac{100}{17} \cdot 0{,}0001 = 0{,}000588$

$T_{i,v} = 0{,}000588$ g
$T_1 = 0{,}00588$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00562$ g
$T = \mathbf{0{,}56}\ \%$.

6. 1 g **Hühnereiweiß** wie oben.

$\alpha_1 = 76°$
$\alpha_2 = 13°\ 42'$

$s = 0{,}2432$
$T_{i,v} = 0{,}000547$ g
$T_1 = 0{,}00547$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00521$ g
$T = \mathbf{0{,}52}\ \%$.

Colorimetrisch:

100 18

$\frac{100}{18} \cdot 0{,}0001 = 0{,}0005555$

$T_{i,v} = 0{,}000556$ g
$T_1 = 0{,}00556$ g
korrrigiert $T_1 = 0{,}0053$ g
$T = \mathbf{0{,}53}\ \%$.

7. 1 g **Edestin** wie oben.

$\alpha_1 = 78°\ 36'$
$\alpha_2 = 12°\ 30'$

$s = 0{,}2699$
$T_{i,v} = 0{,}000607$ g
$T_1 = 0{,}00607$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00581$ g
$T = \mathbf{0{,}58}\ \%$.

Colorimetrisch:

100 16

$\frac{100}{16} \cdot 0{,}0001 = 0{,}000625$

$T_{i,v} = 0{,}000625$ g
$T_1 = 0{,}00625$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00599$ g
$T = \mathbf{0{,}599}\ \%$.

8. 1 g **Edestin** wie oben.

$\alpha_1 = 78°\ 54'$
$\alpha_2 = 12°\ 6'$

$s = 0{,}2752$
$T_{i,v} = 0{,}000619$ g
$T_1 = 0{,}00619$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00593$ g
$T = \mathbf{0{,}59}\ \%$.

Colorimetrisch:

100 15

$\frac{100}{15} \cdot 0{,}0001 = 0{,}000667$ g

$T_{i,v} = 0{,}000667$ g
$T_1 = 0{,}00667$ g
korrigiert $T_1 = 0{,}00641$ g
$T = \mathbf{0{,}64}\ \%$.

Bisher wurden folgende Tryptophanbestimmungen ausgeführt:

1.	Albumin aus Blut	0,95 %	Tryptophan
2.	Albumin aus Milch	0,91 %	"
3.	Blutfibrin	1,05 %	"
4.	Casein	0,51 %	"
5.	Caseoglutin	0,08 %	"
6.	Conglutin aus gelben Lupinen	0,06 %	"
7.	Edestin aus Ölsamen	0,58 %	"
8.	Elastin	0,22 %	"
9.	Globulin aus Kürbiskernen	0,61 %	"
10.	Glutencasein aus Weizenkleber	0,07 %	"
11.	Hühnereiweiß	0,52 %	"
12.	Keratin	0,03 %	"
13.	Legumin aus Erbsen	0,33 %	"
14.	Pflanzenfibrin	0,04 %	"
15.	Witte-Pepton	1,25 %	"
16.	Pflanzenleim	0,42 %	"
17.	Tyroalbumin	0,05 %	"
18.	Vitellin aus Kürbis	0,30 %	"
19.	Brot (weiß, Trockensubstanz 69,9 %)	0,03 %	"
20.	Milch (spez. Gew. 1,031)	0,02 %	"

Weitere Bestimmungen wie auch Tryptophanstoffwechselversuche sind im Gange.

Zur Lehre der Resorptionsvorgänge im Darm.

Von

N. A. Dobrowolskaja.

(Aus der Pathologischen Abteilung des Instituts für experimentelle Medizin [Vorstand: E. S. London]).

(Eingegangen am 17. September 1913.)

Die Fortschritte der Physiologie und der physiologischen Chemie, speziell der Chemie der Eiweißsubstanzen einerseits, das sorgfältige Studium der Verdauungsprozesse und der mit diesen verbundenen komplizierten chemischen Metamorphosen der Nahrungsmittel andererseits haben die Frage, in welcher Form diese Nahrungsmittel aus dem Magendarmkanal in die Säfte und Gewebe des Organismus übergehen, wieder in den Vordergrund des Interesses gestellt. Wo, fragt es sich, ist die Etappe, auf der an die Stelle der abbauenden Verdauungsfermente zum erstenmal Agenzien entgegengesetzter Natur, nämlich aufbauende, treten. Gegenwärtig gilt bekanntlich als feststehend [Abderhalden, London[1]) u. a.], daß die Eiweißsubstanzen im Darme bis auf Aminosäuren, diese indifferenten, für die verschiedensten Eiweißsubstanzen gemeinsamen Bausteine, abgebaut werden, aus denen sich dann der komplizierte Bau des Eiweißmoleküls wieder aufrichtet. Die am meisten verbreitete, wenn auch nicht absolut erwiesene Ansicht ist, daß gerade in Form von Aminosäuren die Resorption des Nahrungseiweißes vor sich geht, während die Desaminierung der Aminosäuren im Darme auf Grund der Untersuchungen von Folin und Denis[2]) in Abrede gestellt wird.

---

[1]) Abderhalden, Schutzfermente. Berlin. II. Auflage 1913. J. Springer. — Abderhalden und Samuely, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 1905. — Abderhalden, Kautsch und London, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 1906.

[2]) Folin und Denis, Journ. of Biolog. Chem. 11, 527 und 161.

In bezug auf das weitere Schicksal des im Darmkanal gespaltenen Eiweißes, d. h. in bezug auf die Frage, ob die Aminosäuren irgendwelchen Veränderungen schon in der Darmwand selbst anheimfallen, oder ob sie aus dem Darmkanal in das Blut als solche übergehen, gibt es in den Ansichten der verschiedenen Autoren eine Übereinstimmung vorläufig noch nicht. Es machen sich hier zwei Hauptströmungen geltend: die erste, die sich den früheren Lehren von Heidenhain, Hoffmeister u. a. anschließt, nimmt an, daß sich die Aminosäuren schon in der Darmwand selbst, teils in der Leber zu den komplizierten Komplexen der Bluteiweiße gruppieren und in dieser Form den Zellen des Organismus zugeführt werden. Diese letzteren spalten mittels der in ihnen enthaltenen Fermente das Bluteiweiß als Nahrungsmaterial wieder bis auf Aminosäuren, aus denen sich dann die eigentlichen Eiweiße der Zellen aufbauen (Abderhalden, Lampé)[1]. Diese Ansicht basiert erstens auf dem Umstand, daß es bis auf den heutigen Tag nicht gelungen ist, aus dem Blute der Pfortader Aminosäuren in reinem Zustande zu isolieren, und zweitens darauf, daß einzelne Aminosäuren, z. B. Tyrosinkrystalle, bei Bestreichung einer frischen Schnittfläche der Leber mit Seidenpepton gewonnen werden konnten. Die Versuche, einen direkten Beweis dafür zu liefern, daß sich komplizierte Komplexe aus Aminosäuren schon in der Darmwand selbst bilden, sind jedoch ohne Erfolg geblieben, da es auch hier nicht gelungen ist, einzelne Aminosäuren in freiem Zustande zu isolieren.

Die zweite Strömung, die aus der allerletzten Zeit herrührt, nimmt an, daß die Aminosäuren als solche in das Blut übergehen, also in unverändertem Zustande den Organen und Geweben zugeführt werden und hier schon von den Zellen zu verschiedenen Eiweißarten, den Bedürfnissen und Eigenschaften der Zellen entsprechend, synthesiert oder aber von denselben unmittelbar als Quelle von Lebensenergie konsumiert werden. Die Untersuchungen, auf die sich diese Richtung stützt, sind bestrebt, die Veränderungen zu verfolgen, die sich im Blute während der Resorption der Verdauungsmischungen und der einzelnen Aminosäuren aus dem Magendarmkanal abspielen, in-

[1]) Abderhalden und Lampé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 81, 1912.

dem sie die Schwankungen des Nichteiweißstickstoffs im Blute (Folin und Denis[1]), van Slyke und G. Meyer[2]) bestimmen oder nach Sörensen[3]) mittels Formol den Stickstoff der freien Amidogruppen titrieren (Delaunay). Die Experimente bestehen gewöhnlich darin, daß nach Eröffnung der Bauchhöhle verschiedene Produkte der Eiweißverdauung in durch Unterbindung isolierte Abschnitte des Magendarmkanals eingeführt werden. Von allen Autoren wird hierbei eine mehr oder minder stark ausgeprägte Zunahme des Nichteiweiß-, des Amidstickstoffs, und zwar sowohl im mesenterialen als auch im peripherischen Blute hervorgehoben. Van Slyke und G. Meyer geben folgende Zahlen an: Bei einem hungrigen Hunde enthielten 100 ccm Blut Amidstickstoff in Milligramm: in der A. femoralis 3,7 bis 4,4, in der V. cava 5,4, in der Mesenterialvene nüchtern 3,9, nach Injektion von Alaninlösung in den Dünndarm 6,3. Im Experiment mit Fleischfütterung waren es in der A. femoralis vor der Fütterung 3,7, nach der Fütterung 8,6. In der Mesenterialvene nach der Fütterung 10,2 mg. Noch bedeutendere Zunahmen des Amidstickstoffs bei der Resorption von Eiweißverdauungsprodukten gibt Delaunay[4]) an.

Auf indirektem Wege sucht denselben Lehrsatz von dem Übergang der Aminosäuren aus dem Darmkanal in das Blut und von der ausschließlichen Synthese des Eiweißes in den Geweben auch Steck zu beweisen. Seine Experimente bestehen darin, daß er Hunde 3 Tage lang mit reichlicher eiweißfreier Nahrung fütterte, die sämtliche Bedürfnisse des Organismus an Calorien deckte, und diejenige N-Menge bestimmte, die der Organismus ausschied, indem er sein eigenes Eiweiß verbrauchte, und die dem minimalen Bedarf des Organismus an N — Abnutzungsquote nach Rubner — entspricht. Am 4. Tage fügte er dann irgendein Eiweiß in solcher Quantität hinzu, um den ganzen minimalen Bedarf des Organismus an N zu decken; die angewendeten Eiweiße waren

[1]) Folin und Denis, Journ. of Biolog. Chem. 11, 87 und 253, 1912.

[2]) Slyke und Meyer, Journ. of Biolog. Chem. 12, 1912.

[3]) Sörensen, Enzymstudien. Diese Zeitschr. 7, 1908.

[4]) Delaunay, Contribution à l'étude du rôle des acides aminés dans l'organisme animal. Thèse de Bordeaux 1910. Zit. nach Arch. d. mal. de l'app. digestif 5, 218, 1911.

von verschiedener Spaltbarkeit nach Falta und Vogt: die einen — Rindfleisch, Casein — werden leicht verdaut, in den anderen — Ovalbumin, Hämoglobin — verbleibt nach Abspaltung eines Teiles der Aminosäuren ein schwer spaltbarer Kern zurück. Steck kalkuliert folgendermaßen: Wenn die Eiweißsynthese schon in der Darmwand, im Moment der Resorption, vor sich geht, so muß leicht spaltbares Eiweiß, das dem Organismus gleichzeitig sämtliche notwendigen Aminosäuren liefert, den Bedarf des Organismus an N in einer der „Abnutzungsquote" entsprechenden Quantität vollständig decken; bei schwer spaltbarem Eiweiß ist in Anbetracht des Umstandes, daß die verschiedenen für die Synthese erforderlichen Aminosäuren nicht gleichzeitig gebildet werden, mehr Eiweiß erforderlich. In seinen Experimenten hat Steck Stickstoffgleichgewicht bei Fleisch, Ovalbumin, Casein und, mit einem geringen Minus, bei Hämoglobin in Quantitäten, die der Abnutzungsquote entsprechen, erhalten, und er zieht daraus den Schluß, daß die Aminosäuren gesondert als solche resorbiert werden, und daß die Eiweißsynthese erst in den Zellen der Organe und Gewebe selbst stattfindet, wohin die aus dem Darmkanal aufgenommenen Aminosäuren mit dem Blut gebracht werden.

Die Zunahme des Nichteiweißstickstoffs im Blute bei Resorption von Verdauungsprodukten des Eiweißes aus dem Darm stellt auf Grund seiner Experimente mit Triketohydrindenhydrat auch Abderhalden nicht in Abrede; er glaubt aber, daß dies die Auffassung, daß die Eiweißsynthese als Regel schon in der Darmwand vor sich geht, nicht widerlegt.

Auf Anregung E. S. Londons arbeite ich auf diesem Gebiete seit 1910. Ursprünglich hatten unsere Experimente ebenso wie diejenigen der übrigen Autoren den Charakter von akuten Experimenten; sie bestanden darin, daß bei einem Hunde, der zuvor 24 Stunden gehungert hatte, in leichter Morphium-Chloroform-Narkose die Bauchhöhle eröffnet, eine Blutkontrollprobe aus der Pfortader genommen und in eine der ersten Schlingen des Jejunum ein Drainrohr eingeführt wurde, das man mit seinem anderen Ende durch die Bauchwunde nach außen hinausleitete, worauf die Bauchhöhle vollständig vernäht wurde. Durch das eingeführte Drainrohr injizierte man von Zeit zu Zeit mit einer Spritze langsam in

den Darm verschiedene Substanzlösungen. Der Hund blieb unter leichter Narkose. Einige Zeit nach Beginn des Experiments wurde die Bauchhöhle wieder eröffnet und Blut aus der Pfortader entnommen.

Um die Frage zu lösen, inwiefern bei dieser unserer Versuchsanordnung eine Resorption aus dem Darm überhaupt möglich war, stellten wir eine Reihe von Vorversuchen mit Zucker (es wurden in den Darm 200 ccm einer 5%igen Dextroselösung eingeführt) als einer Substanz an, die bekanntlich aus dem Serum quantitativ leicht gewonnen werden kann. Zu diesem Zwecke wurde das Serum durch Kochen und durch Schütteln mit Kaolin von Eiweiß befreit und der Zucker nach Bertrand bestimmt.

Hier einige kurze Berichte über diese Experimente:

Nr. 1. Ein Hund, der zuvor nicht gehungert hatte. Kontrolle: In 5 ccm Serum 22,15 mg bzw. 0,44% Zucker; nach Einführung von Dextrin in den Darm ergab die Analyse dieselben Zahlen wie in der Kontrolle. 5 ccm wurden hydrolysiert. Es wurden dann in denselben 26,8 mg bzw. 0,54% Zucker festgestellt.

Nr. 2. Dieses Experiment wurde wie alle nachstehenden an Hunden ausgeführt, die zuvor 24 Stunden gehungert hatten. Kontrolle wurde hier nicht genommen. $^1/_2$ Stunde nach der Einführung von Traubenzucker in den Darm wurde Blut entnommen. In 5 ccm Serum fanden sich 23,1 mg bzw. 0,46% Zucker. Nach Hydrolyse: dasselbe. Es wurde auch der Darminhalt einer Analyse unterzogen und 2,829 g Zucker festgestellt, so daß 7,171 g Zucker resorbiert worden waren.

Nr. 3. Kontrolle: 5 ccm Serum enthielten 7,25 mg bzw. 0,15% Zucker. Die Versuchsprobe wurde nach $2^1/_2$stündiger Resorption entnommen. In 5 ccm Serum wurden 25 mg bzw. 0,5% Zucker nachgewiesen. Aus dem Darm wurden wiedergewonnen 1,09 g, resorbiert waren somit 8,91 g Zucker.

Nr. 4. Kontrolle: 5 ccm Serum enthielten 6,0 mg bzw. 0,12% Zucker. Versuchsprobe (die Resorption dauerte 3 Stunden): a) zu Beginn der Blutentnahme waren in 5 ccm 11,1 mg bzw. 0,22% Zucker; b) gegen Ende der Blutentnahme wurden in 5 ccm Serum 10,3 mg bzw. 0,21% Zucker festgestellt, aus dem Darm zurückgewonnen 0,578 g Zucker. Es waren somit resorbiert 9,422 g Zucker. Der relativ geringe Zuckergehalt in der Versuchsprobe ist augenscheinlich durch die späte Blutentnahme bedingt; es war im Darm nur noch sehr wenig Zucker enthalten.

Nr. 5. Um festzustellen, wie gleichmäßig der Zucker in der Verdauungsperiode sich in den verschiedenen Gefäßen verteilt, wurden folgende Proben einer Analyse unterzogen: a) aus dem Herzen: 5 ccm Serum enthielten 20 mg bzw. 0,4% Zucker; b) aus der V. cava: 5 ccm

Serum enthielten 14,2 mg bzw. 0,28 % Zucker; c) aus der A. femoralis: 5 ccm Serum enthielten 12,3 mg bzw. 0,25 % Zucker: d) aus der V. jugularis: 5 ccm Serum enthielten 10,8 mg bzw. 0,22 % Zucker.

Aus den im vorstehenden wiedergegebenen Beobachtungen geht hervor, daß der geringe Zuckergehalt (0,1 bzw. 0,15 %), der im Blutserum auch des nüchternen Tieres vorhanden war, im Stadium der Darmresorption bisweilen bis 0,4 bis 0,5 % hinaufging. Augenscheinlich ist auch sonst während der Verdauung der Zuckerprozentsatz im Blute der Pfortader derselbe, sofern man nach dem ersten Experiment urteilen darf, in dem die Kontrollprobe einem Tiere entnommen war, das zuvor nicht gehungert hatte. Die gewonnenen Resultate, die mit den früheren Beobachtungen (v. Mehring[1]) übereinstimmen, gaben uns somit Anlaß, mit unseren Experimenten in derselben Art und Weise fortzufahren, wobei wir in den Darm schon Eiweißverdauungsprodukte einführten, und zwar meistenteils frischen Chymus, der aus der Darmfistel eines anderen mit irgendeinem Eiweiß gefütterten Hundes frisch gewonnen war. Unsere weitere Aufgabe war, die gewonnenen Sera eiweißfrei zu machen und durch Titrierung der freien Amidogruppen des Nichteiweißstickstoffs nach Sörensen festzustellen, ob nicht bei der Resorption eine Zunahme gerade des Amidstickstoffs im Verhältnis zum gesamten Nichteiweißstickstoff stattfindet.

Um die Sera eiweißfrei zu machen, verwendeten wir verschiedene Methoden, aber immer wurden die Kontroll- und die Versuchsprobe, die miteinander verglichen werden sollten, ganz in derselben Weise behandelt. In einigen Experimenten wurden bisweilen Parallelanalysen ausgeführt, wobei zur Befreiung der Sera vom Eiweiß verschiedene Methoden angewendet wurden. Von einer ausführlichen Beschreibung derselben möchte ich Abstand nehmen und nur auf den Aufsatz von Rona[2]) im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden hinweisen und sagen, daß wir lange Erwärmung vermieden und die Sera nach Fällung des Eiweißes gewöhnlich bei nicht hohen Temperaturen eingeengt haben. Was die Titrierung des Amidstickstoffs nach Sörensen betrifft, so hat diese Methode Sörensen selbst in seinem bezüglichen Aufsatz ausführlich beschrieben, während

[1]) v. Mering, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1877.

[2]) P. Rona, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden 1.

ich dieselbe so verwendete, wie ich es in der Arbeit „Zur Lehre des Einflusses der Blutverluste auf die Verdauungsprozesse"[1]) beschrieben habe. Der Gesamtamidstickstoff (der Peptid- + Amidstickstoff) wurde nach Hydrolyse mit trinormaler Salzsäure $1^1/_2$ Stunden lang im Autoklaven bei 150° bestimmt.

Zur Veranschaulichung sind die Resultate, die sich auf die einzelnen Experimente beziehen, in der folgenden Tabelle I zusammengestellt.

In den ersten 4 Experimenten dieser Tabelle sah man in den Versuchsproben im Vergleich zu den Kontrollproben deutliche Zunahme des freien Amidstickstoffs im Verhältnis zum Peptidstickstoff, in den Experimenten 8 und 9 auch im Verhältnis zum gesamten Nichteiweißstickstoff (in den Experimenten 6 und 7 wurde eine Bestimmung des gesamten Nichteiweißstickstoffs nicht gemacht). Was die absoluten Zahlen betrifft, so stehen sie, wie es sich ergibt, in bedeutendem Maße mit der Methode der Bearbeitung des Serums behufs Enteiweißung desselben im Zusammenhang. In den Experimenten 8 und 9 wurden Parallelanalysen der Kontrollproben vorgenommen. Es ergab sich dabei, daß die Behandlung mit Mastix im Vergleich zur Behandlung mit Dampf etwas geringere Zahlen für den Gesamtstickstoff und den Peptidstickstoff, wohl aber eine größere Zahl für den Amidstickstoff ergibt, wodurch das Verhältnis des Amidstickstoffs zum Gesamt- und Peptidstickstoff höher proportioniert erscheint. Wenn das Serum nach der Behandlung mit Dampf noch mit Kaolin behandelt wurde, so bemerkte man bei unverändert gebliebener Konzentration des Amidstickstoffs deutliche Verringerung der Konzentration des gesamten Nichteiweiß- und des Peptidstickstoffs, wodurch auch das Verhältnis des Amidstickstoffs zum Gesamt- und Peptidstickstoff sich als weit höher proportioniert erwies (Versuch 9).

Im folgenden Experiment (10) erwies sich das Verhältnis des Amidstickstoffs zum gesamten Nichteiweiß- und Peptidstickstoff in der Versuchsprobe im Vergleich zur Kontrollprobe sogar als verringert, trotzdem die Konzentration des Amidstickstoffs im Serum sich nicht nur verringert, sondern sich

[1]) N. A. Dobrowolskaja, Archives des Sciences Biologiques 16, Nr. 5.

Tabelle I.

Nr. des Exper.	Methode der Serumbehandlung zur Enteiweißung	Zur Analyse genommene Serummenge ccm	Kontrolle: Ges.-Nichteiweiß-N in Milligramm und Konzentration desselben im Serum in Proz.	Kontrolle: Amid-N in Milligramm und Konzentration desselben im Serum in Proz.	Kontrolle: Peptid-N in Milligramm und Konzentration desselben in Proz.	Verhältnis des Amid-N zum Gesamt-N %	Verhältnis des Amid-N zum Peptid-N %	Zur Analyse genommene Serummenge ccm	Experiment: Ges.-Nichteiweiß-N und Konzentration desselben im Serum in Proz.	Experiment: Amid-N in Milligramm und Konzentration desselben im Serum in Proz.	Experiment: Peptid-N in Milligramm und Konzentration desselben im Serum in Proz.	Verhältnis des Amid-N zum Gesamt-N %	Verhältnis des Amid-N zum Peptid-N %
6	Erwärmung über dem Wasserbad nebst Ansäuerung mit Essigsäure	25,0	—	5,84 =0,021 %	25,4 =0,118 %	—	20,0	25,0	—	3,64 =0,015 %	11,2 =0,045 %	—	32,5
7	Verdünnt mit 10facher Quantität 2 % NaCl und Kochen	11,5	—	1,68 =0,015 %	22,4 =0,19 %	—	7,5	50,0	—	64,4 =0,129 %	11,2 =0,022 %	—	17,4
8	a) Behandlung mit Dampf	30,0	21,0 = 0,07 %	1,49 =0,005 %	14,0 =0,047 %	7,0	10,6	47,0	47,6 =0,1 %	5,13 =0,011 %	34,3 =0,073 %	10,8	15,0
	b) mit Mastix	30,0	18,9 =0,063 %	2,8 =0,009 %	10,5 =0,035 %	14,8	26,7						
9	a) mit Dampf	39,0	28,0 =0,072 %	3,73 =0,01 %	14,0 =0,036 %	13,3	26,6	10,9	24,57 =0,23 %	4,54 =0,041 %	14,49 =0,135 %	18,5	31,3
	b) nach Dampf Behandlung mit Kaolin	39,0	14,0 =0,036 %	3,73 =0,01 %	8,4 =0,022 %	26,6	44,4						
10	mit Mastix	50,0	26,6 =0,053 %	7,0 =0,014 %	19,6 =0,039 %	26,4	37,5	50,0	29,4 =0,059 %	7,7 =0,015 %	26,6 =0,053 %	26,2	28,9
	Kontrollhund unter Narkose auf dem Experimentiertisch 2 Stunden lang verblieben ohne Chymusinjektion.												
11	mit Mastix	14,0	8,62 =0,062 %	1,96 =0,014 %	6,27 =0,045 %	22,7	31,3	14,0	6,61 =0,047 %	2,52 =0,018 %	6,27 =0,045 %	38,1	40,2
	Kontrollhund. Das gesamte Blut wurde in 3 Portionen entnommen, ohne Chymusinjektion.												
12	4fache Verdünnung u. koaguliert durch Hitze b. Ansäuerung mit Essigsäure	I 25,0	17,22 =0,069 %	2,52 = 0,01 %	12,6 =0,05 %	14,6	20,0	III 25,0	22,26 =0,089 %	1,2 = 0,005 %	—	5,4	—
	mit Alkohol	II 25,0	16,1 =0,064 %	3,3 =0,013 %	8,9 =0,039 %	20,5	33,7						

sogar etwas vergrößert hatte. Die Konzentration des gesamten Nichteiweißstickstoffs und des Peptidstickstoffs hatte sich in höherem Grade als verstärkt erwiesen, was sich durch Verringerung der obenerwähnten prozentualen Verhältnisse äußerte. Dieses Resultat hätte man mit der späten Entnahme der Versuchsblutprobe ($2^1/_2$ Stunden nach Beginn des Experiments) in Zusammenhang bringen können, wenn nicht die nächstfolgenden Kontrollversuche ergeben hätten, daß hier die Wechselbeziehungen weit komplizierter waren.

Um über die Rolle der andauernden, wenn auch nicht tiefen Narkose, der Rückenlage und der sonstigen Manipulationen ins klare zu kommen, wurde das Experiment 11 vorgenommen. Alles ging wie gewöhnlich vor sich, nur wurde in den Darm Chymus nicht eingeführt. Die Blutproben wurden nur in Portionen von je 25 ccm entnommen, um das Tier nicht zu entbluten und auf diese Weise das Experiment nicht zu komplizieren. Aber trotzdem war das Resultat ein unerwartetes: das prozentuale Verhältnis des Amidstickstoffs zum gesamten Nichteiweiß- und Peptidstickstoff nach 2 stündiger Rückenlage in schwacher Narkose hat sich als ebenso vergrößert erwiesen wie in den Experimenten mit Resorption von Eiweißverdauungsprodukten im Darm. Dabei hatte sich die Konzentration des gesamten Nichteiweißstickstoffs etwas verringert, während diejenige des Amidstickstoffs etwas zugenommen hatte. Das nächstfolgende Experiment ergab, daß mit fortschreitender Entblutung des Tieres auch bedeutende Schwankungen sowohl in der Konzentration der verschiedenen Stickstoffarten als auch in ihrem prozentualen Verhältnis zueinander eingetreten sind. Die Endprobe ergab im Vergleich mit der Anfangsprobe (beide wurden in gleicher Weise behandelt) bedeutende Abnahme des Amidstickstoffs und Zunahme des gesamten Nichteiweißstickstoffs; leider wurde die Zwischenportion anders behandelt und mußte infolgedessen beim Vergleich außer acht bleiben. Auf die Details dieser Experimente gehe ich nicht weiter ein, und wenn ich mich entschlossen habe, diese Experimente zu veröffentlichen, so ist es nur aus dem Grunde geschehen, weil sie zeigen, wie wenig die groben Manipulationen des akuten Experiments denjenigen feinen Lebensprozessen entsprechen, die wir mit ihrer Hilfe zu erfassen bestrebt sind.

Den soeben beschriebenen Experimenten parallel unternahmen wir noch Experimente in vitro in der Hoffnung, daß es vielleicht gelingen könnte, im Blutserum, in der Darmwand oder in den Verdauungssäften irgendwelche synthesierenden Agenzien wahrzunehmen, deren Vorhandensein an der einen oder der anderen Stelle gewisse Auskunft über den Charakter der die Resorption begleitenden Prozesse hätte geben können. Für diese Experimente verwendeten wir als Substrate verschiedene Substanzen: 1. „Fistel"-Casein, Gliadin usw. Es sind dies Produkte der natürlichen Eiweißverdauung, von Hunden mit Darmfisteln gewonnen, durch Kochen und Filtrieren von gerinnenden Eiweißsubstanzen befreit und in trockenem Zustande aufbewahrt. In diesem Material gibt es eine natürliche Mischung von löslichen Verdauungsprodukten, und zwar von den komplizierteren (Albumin, Pepton) bis zu den einfachsten (verschiedene Aminosäuren). 2. Unter dem Namen „degradiertes Material" oder „Abiuret-Material" verstehen wir dasjenige Material, das noch in Form von unmittelbar aus der Fistel eines Hundes gewonnenem Chymus im Brutschrank einer weiteren Fermenteinwirkung bis zum Verschwinden der Biuretreaktion ausgesetzt wurde. In diesem Material sind kompliziertere Eiweißverdauungsprodukte nicht mehr vorhanden. 3. Schließlich wurden bisweilen auch reine Aminosäuren verwendet.

Zu bestimmten Quantitäten dieser Substanzen wurden als Versuchsmaterial, gleichfalls in bestimmten Quantitäten, verschiedene Sera, bei niedrigster Temperatur getrocknete und pulverisierte Darmschleimhaut vom Hunde, sowie auch der übrige Teil der Darmwand und schließlich selbstverdauter Pankreassaft hinzugefügt. Es wurden stets zwei vollkommen gleiche Proben genommen, von denen die eine gleich an Ort und Stelle gekocht wurde, um die Fermente abzutöten, die andere aber ungekocht blieb. Beide Proben wurden nach Zusatz von Thymol oder Toluol in den Brutschrank gebracht. Nach einer mehr oder minder langen Zeitperiode (1 bis 7 Tage) wurden in beiden Proben die Eiweißsubstanzen unter Ansäuern mit Essigsäure durch Kochen gefällt; nach dem Filtrieren wurde der Filterrückstand meistenteils ganz nach Kjeldahl verbrannt und im Filtrat der Gesamtstickstoff nach Kjeldahl, der Amid-

stickstoff nach Sörensen bestimmt. In den Experimenten mit dem der Selbstverdauung überlassenen natürlichen Pankreassaft gingen wir von folgendem Gedanken aus: in derjenigen Mischung von Fermenten, die der Pankreassaft darstellt, kann man auch das Vorhandensein eines synthetischen Ferments annehmen, das nur durch die Wirkung der spaltenden Fermente maskiert wird. Der Selbstverdauung ausgesetzt, konnte er vielleicht, nachdem er sein spaltendes Agens ganz verbraucht hätte, das synthesierende Ferment in Wirkung treten lassen.

Die Angaben, die sich auf alle diese Experimente beziehen, haben wir in folgender Tabelle II zusammengestellt.

Bei diesen Experimenten hätte sich das Vorhandensein eines synthetisierenden Agens durch Abnahme des freien Amidstickstoffs im Verhältnis zum gesamten Nichteiweißstickstoff geltend machen können, da bei der Bildung von Di-, Tri- und Polypeptiden aus einzelnen Aminosäuren, überhaupt von komplizierteren Verbindungen aus einfacheren, die Quantität des mittels Formol titrierten Stickstoffs sich bekanntlich verringert. In unseren Experimenten mit Serum wurde eine derartige Verringerung zweimal beim Hundeserum aus der Pfortader (Experimente 15 und 16) und einmal beim Serum von Meerschweinchen beobachtet (Experiment 18). In den übrigen Experimenten wurde im Gegenteil sogar eine Zunahme des Amidstickstoffs beobachtet, d. h. spaltende Wirkung festgestellt. In den Experimenten mit Darmwand wurde gleichfalls eine geringe Abnahme des Amidstickstoffs im Verhältnis zum gesamten Nichteiweißstickstoff beobachtet, und zwar in den Experimenten 21, 24 und 26. In der Mehrzahl der Fälle wurde Vergrößerung dieses prozentualen Verhältnisses, desgleichen Verringerung des Filterrückstandes beobachtet, und zwar infolge der Selbstverdauung der Darmwand seitens der in derselben enthaltenen spaltenden Fermente. Die Proben mit Darmwand ohne Schleimhaut ergaben gleichfalls Spaltung der eigenen Eiweißsubstanzen, wahrscheinlich dank dem Vorhandensein von intracellulären Fermenten. In den Experimenten mit selbstverdautem Pankreassaft ergab sich das eine Mal eine geringe Abnahme des Amidstickstoffs, das andere Mal dagegen eine Zunahme.

Tabelle II.

Nr. des Experim.	Versuchsanordnung	Kontrolle		Experiment	
		N des Filterrückstandes mg	Verhältnis des Amid-N zum ges. Nichteiweiß-N im Filtrat %	N des Filterrückstandes mg	Verhältnis des Amid-N zum ges. Nichteiweiß-N im Filtrat %
13	10 ccm 5%igen degradierten Gliadins + 10 ccm Pferdeserum	—	36,0	—	38,0
14	10 ccm 10%igen degradierten Gliadins + 10 ccm Hundeserum aus der V. portae	—	47,0	—	48,7
15	10 ccm 10%igen Fistelgliadins + 5 ccm Hundeserum aus der V. portae	—	12,4	—	11,0
16	10 ccm 10%igen degradierten Gliadins + 10 ccm Hundeserum aus der V. portae	—	13,7	—	13,2
17	10 ccm 10%igen Fistelgliadins + 10 ccm Hundeserum aus der V. portae	—	25,8	—	25,8
18	5 ccm 5%igen Fistelgliadins + 4 ccm gemischtes Serum von 2 Meerschw.	—	32,9	—	23,9
19	10 ccm 5%igen Fistelcaseins + 3 ccm Serum eines Meerschweinchens, das zuvor gehungert hatte	—	14,4	—	19,6
20	2,0 trockenen Fistelgliadins + 0,7 trockener Darmschleimhaut, mit Wasser verdünnt	61,32	34,2	14,28	57,5
21	2,0 Glykokoll + 1,0 Darmschleimhaut mit Wasser verdünnt	70,56	100,0	41,2	93,1
22	2,0 Alanin + 1,0 getrockneter Darmschleimhaut, mit Wasser verdünnt	14,42	66,5	27,16	73,9
23	2,0 Fistelcasein + 1,8 Darmwand ohne Schleimhaut, mit Wasser verdünnt	140,1	16,9	109,9	58,7
24	2,0 Glykokoll + 1,8 getrockneter Darmwand ohne Schleimhaut, mit Wasser verdünnt	—	90,7	—	89,9
25	2,0 Alanin + 1,8 getrockneter Darmwand ohne Schleimhaut, mit Wasser verdünnt	—	86,8	—	88,3
26	1,0 Glutaminsäure + 1,8 Darmwand ohne Schleimhaut, mit Wasser verdünnt	169,12	47,7	100,8	42,9
27	5 ccm einer Lösung degradierten Caseins + 3 ccm selbstverdauten Pankreassaftes	—	16,52	—	16,24
28	5 ccm einer Lösung von Albumosen und Peptonen + 5 ccm selbstverdauten Pankreassaftes	0,98	28,3	1,12	28,3
29	15 ccm Fistelgliadins + 10 ccm selbstverdauten Pankreassaftes	0,84	71,7	1,26	73,6[1]

[1] Im letzten Experiment wurde nicht der freie Amidstickstoff, sondern der gesamte Amidstickstoff bestimmt, der sich bekanntlich aus dem freien Amidstickstoff + Peptidstickstoff zusammensetzt.

Somit hat uns auch diese Versuchsreihe keine bestimmten Resultate geliefert. Unter den künstlich vereinfachten Versuchsbedingungen in vitro bleibt der zu erforschende Prozeß immerhin außerordentlich kompliziert, und es gelingt nicht wahrzunehmen, warum er das eine Mal in der einen Richtung, das andere Mal gleichsam in der entgegengesetzten Richtung vor sich geht.

Man mußte also nach anderen Methoden fahnden, um der uns interessierenden Frage näher zu kommen. Von dem Standpunkte ausgehend, daß viele von den im Blute zirkulierenden gelösten Substanzen bei Steigerung ihrer Konzentration in den Harn übergehen (alimentäre Glucosurie), haben wir beschlossen, die Niere als natürlichen Filter zu benutzen und in dieselbe mittels einer Gefäßanastomose Blut aus der Pfortader überzuleiten. Zu diesem Zwecke nähten wir das peripherische Ende der A. renalis mit dem zentralen Ende der V. lienalis zusammen und legten, um den Druck in der Pfortader zu steigern, in einigen Fällen noch eine Ligatur auf die Pfortader an, und zwar oberhalb der Mündungsstelle der V. lienalis, wobei wir dieselbe nur teilweise zusammenzogen, und zwar so, daß das Lumen des Gefäßes immerhin erhalten blieb. Auf diese Weise mußte ein Teil des Blutes der Pfortader unter Umgehung der Leber in die Niere gelangen, so daß die in diesem Blute während der Verdauungsperiode enthaltenen Eiweißverdauungsprodukte in den Harn übergehen konnten.

Wir haben ca. 20 derartige Operationen ausgeführt. Bei der Mehrzahl der Hunde wurde unmittelbar nach Anlegung der Anastomose zwischen der A. renalis und der V. lienalis an der rechten Niere die linke entfernt. Alle diese Tiere sind innerhalb der ersten 5 Tage unter Erscheinungen von Urämie zugrunde gegangen. In der kollabierten Harnblase gelang es bisweilen, 20 bis 25 ccm trüber Flüssigkeit zu finden, die viel Eiweis und Zellelemente enthielt. In 2 Fällen, in denen die zweite Niere belassen wurde, blieben die Tiere am Leben; ihr Harn nahm nach und nach normales Aussehen an, und die Tiere unterschieden sich in keiner Weise von normalen; nach Entfernung der gesunden Niere sind beide Hunde nichtsdestoweniger unter Erscheinungen von Urämie zugrunde gegangen.

Bei der Sektion erwies sich die zurückgebliebene Niere als geschrumpft, hart; die Stelle der Anastomose war stark verengt, die V. lienalis verdickt, dem Aussehen nach der A. renalis ähnlich, deren Anfangsteil sie jetzt eigentlich war. In dem einen Falle haben wir bei einem gesunden Hunde die linke Niere zuvor entfernt und $3^1/_2$ Monate später die oben beschriebene Gefäßanastomose an der zurückgebliebenen rechten Niere angelegt. Der Hund ging zugrunde; bei der Obduktion fand man einen lockeren Thrombus, der die Stelle der Anastomose verschloß.

Von der Voraussetzung ausgehend, daß ein breiteres venöses Bett sich zur Aufnahme des unter geringem Druck zufließenden Blutes vielleicht als geeigneter erweisen würde, haben wir in der Niere des einen Hundes die Richtung des Blutstromes geändert und eine doppelte Anastomose angelegt, und zwar: das zentrale Ende der V. lienalis vereinigten wir mit dem peripherischen Ende der V. renalis, und das auf diese Weise entstandene Gefäß mußte die Rolle einer Arterie spielen, während wir das periphere Ende der A. renalis nach vorangehender Unterbindung ihres zentralen Endes mit dem zentralen Ende der V. renalis vereinigten; durch dieses Gefäß mußte nun das Blut von der Niere abfließen. Der Hund hat $2^1/_2$ Tage gelebt. Bei der Sektion erwiesen sich die Gefäße als durchgängig. Die Niere war stark vergrößert, dunkel, nekrotisch. Die Harnblase enthielt 25 ccm Harn mit zahlreichen Zellelementen, Zylindern und großer Eiweißmenge.

An zwei am Leben gebliebenen Hunden machten wir, bevor wir die 2. Niere entfernt hatten, eine ganze Reihe von Fütterungsexperimenten mit verschiedenen Substanzen. Hierbei wurde der ganze Harn einer gewissen Zeitperiode gesammelt, durch Kochen und Filtrieren vom Eiweiß befreit, wenn solches vorhanden war, und auf Amid-, Peptid- und Hippursäurestickstoff untersucht, und zwar nach allen von Sörensen und Henriques[1]) in ihrer Beschreibung dieser Methode gemachten Angaben. Die Versuchsanordnung und die beobachteten Resultate sind durch folgende Tabelle gekennzeichnet.

---

[1]) Sörensen und Henriques, Zeitschr. f. physiol. Chem. 63 und 64.

Tabelle III.

Nr. des Experiments	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Tage, an denen der Harn gesammelt wurde	Gesamtquantität des Harns	Gesamt-N	N der peptidgebundenen und freien Amidgruppen		N der freien Amidgruppen			Hippursäure-N		Ammoniak-N	
		ccm	g	g	in % zum Gesamt-N	g	in % zum Gesamt-N	in % zum Peptid- u. Amid-N zus.	g	in % zum Gesamt-N	g	in % zum Gesamt-N
1. Hund. Operation am 10. XI. Anastomose zwischen der A. renalis und V. lien. ohne Verengerung der V. portae.												
			Harn vor der Fütterung									
30	11.–12.XI.	600	19,89	0,3404	1,7	0,1386	0,7	40,7	0,0168	0,08	1,0185	5,1
			Gefüttert mit Milch und Fleisch									
31	13.–14.	680	29,7024	0,4109	1,4	0,2237	0,8	54,4	0,0190	0,06	1,6636	5,6
			Milch und Fleisch									
32	15.	650	20,8936	0,3049	1,5	0,2457	1,2	80,6	0,0255	0,12	1,1216	5,4
			Milch, Brot und Fleisch									
33	16.	900	9,5256	0,3717	3,9	0,2394	2,5	64,4	0,0504	0,53	1,4207	14,9
			Milch, Brot und Fleisch									
34	17.–18.	800	24,5280	0,3360	1,4	0,1716	0,7	51,1	0,0269	0,11	1,3020	5,3
			500 ccm Milch + 300 ccm Wasser + 300,0 Brot täglich									
35	19.–21.	600	31,2032	0,1576	0,5	0,056	0,18	35,5	0,0134	0,04	0,924	3,0
			500 ccm Milch + 300 ccm Wasser + 300,0 Brot + 10,0 Alanin									
36	22.	725	9,5613	0,3553	3,7	0,2690	2,8	75,7	—	—	0,6978	7,3
			500 ccm Milch + 300 ccm Wasser + 300,0 Brot + 10,0 Glykokoll									
37	23.	815	9,0139	0,1198	1,3	0,0823	0,9	68,1	0,0068	0,08	0,7531	8,4
			500 ccm Milch + 300 ccm Wasser + 300,0 Brot + 10,0 Glutaminsäure									
38	24.	840	13,8533	0,1940	1,4	0,0941	0,7	48,5	0,0188	0,14	1,3112	9,5
			Frühere Nahrung + 20,0 degradierten Gliadins									
39	25.	805	7,7570	0,1296	1,7	0,0733	0,9	56,6	0,0045	0,06	0,6001	7,7
			Frühere Nahrung + 15,0 Elastin									
40	26.	800	7,3248	0,1020	1,4	0,0448	0,6	44,0	0,2069	0,37	0,6608	9,2
			Frühere Nahrung + 15,0 Gelatine									
41	27.	800	11,2000	0,1512	1,4	0,0728	0,7	48,1	0,0090	0,09	0,8820	8,0
			500 ccm Milch + 300,0 Brot + 300 ccm Wasser									
42	28.	500	4,1300	0,0560	1,4	0,0315	0,8	56,3	0,0140	0,34	0,4445	10,8
			Frühere Nahrung + 10,0 Thymonucleinsäure									
43	29.	500	4,6990	0,0546	1,2	0,0560	1,2	100,0	0,0224	0,48	0,4673	10,0
			Frühere Nahrung + 10,0 Hefenucleinsäure									
44	30.	620	4,4962	0,0608	1,3	0,0304	0,7	50,0	0,0104	0,23	0,7053	15,7
			Frühere Nahrung + 0,5 Kreatinin									
45	1. XII.	770	5,3253	0,0862	1,6	0,0755	1,4	87,6	0,0129	0,24	0,7330	13,8

Tabelle III (Fortsetzung).

Nr. des Experiments	Tage, an denen der Harn gesammelt wurde	Gesamtquantität des Harns	Gesamt-N	N der peptidgebundenen und freien Amidgruppen		N der freien Amidgruppen			Hippursäure-N		Ammoniak-N	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		ccm	g	g	In % zum Gesamt-N	g	In % zum Gesamt-N	In % zum Peptid- u. Amid-N zus.	g	In % zum Gesamt-N	g	In % zum Gesamt-N
	2. Hund. Operation am 3. XII. mit Verengerung der Pfortader.											
			Harn vor der Fütterung									
46	4.–5. XII.	330	6,8746	0,2125	3,1	0,0947	1,4	44,56	0,0148	0,22	0,47	6,9
			Gefüttert mit Milch und Fleisch									
47	6.–7.	600	19,32	0,2688	1,4	0,1218	0,6	45,3	0,0252	0,13	1,1587	6,0
			550 ccm Milch + 300 g Brot täglich									
48	8.–12.	1660	35,9755	0,8914	2,5	0,3893	1,1	43,7	0,0744	0,21	3,5906	10,0
			Dieselbe Nahrung + 10,0 Alanin									
49	13.	740	10,256	0,2693	2,6	0,2227	2,2	82,8	0,0311	0,30	0,8314	8.1
			Dieselbe Nahrung + 10,0 Glutaminsäure									
50	14.	700	8,3944	0,1568	1,9	0,0539	0,6	34,3	0,0060	0,07	0,9555	11,4
			Dieselbe Nahrung + 10,0 Abinuret-Casein									
51	15.	500	7,42	0,14	1,9	0,07	0,9	50,0	—	—	1,008	14,9
			Dieselbe Nahrung + 10,0 Glykokoll									
52	16.	540	9,072	0,1361	1,5	0,068	0,8	49,9	0,0091	0,10	0,807	8,9

Vorstehende Experimente hätten wahrscheinlich deutlichere Resultate ergeben, wenn wir den Harn nur aus der einen Niere, die von der Pfortader aus mit Blut versorgt wurde, bekommen hätten. Leider ist es uns nicht geglückt, solche Tiere zu bekommen, und infolgedessen haben diese Experimente mehr Bedeutung für die Charakteristik derjenigen Veränderungen, die unter dem Einflusse der Resorption aus dem Darm im gesamten Blutkreislauf eintreten, als speziell für die Veränderungen im System der Pfortader. Wenn wir uns der Betrachtung der am ersten Hunde angestellten Experimente zuwenden, so werden wir sehen, daß der Stickstoff der freien Amidgruppen einen geringfügigen Teil des gesamten Harnstickstoffs (Rubrik 7) ausmacht. Nach der Operation, während des Hungerns, wo der Organismus sein eigenes Eiweiß konsumiert, und bei Fleischnahrung schwankte er zwischen 0,7% und 2,5% des Gesamtstickstoffs. Er war hochgradig verringert (bis auf 0,18%) an denjenigen 3 Tagen, an denen

das Fleisch aus der Diät des Hundes gestrichen war, wo das Tier also nur Brot, Milch und Wasser bekam. An den folgenden Tagen wurden dieser fleischlosen Nahrung verschiedene Aminosäuren hinzugefügt, und es stellte sich wieder bedeutende Zunahme des Amidstickstoffs im Verhältnis zum Gesamtstickstoff ein, wobei die höchste Zahl das Alanin gab (2,8 °/₀). Am 28. XI., wo der Hund wieder nur Milch mit Brot und Wasser bekam, erwies sich der Prozentsatz des Amidstickstoffs als relativ ziemlich hoch (0,8), vielleicht infolge der während der vorhergehenden Periode erfolgten Ansammlung von Aminosäuren im Organismus. Der in den nächsten Tagen erfolgte Zusatz von Nucleinsäuren und von Kreatinin zur Nahrung hatte wiederum einen gewissen Aufstieg des Amidstickstoffgehaltes im Harn zur Folge. Dem freien Amidstickstoff entsprechend, schwankte auch meistenteils die Zahl des gesamten Amidstickstoffes (Rubriken 4 und 5) und diejenige des Hippursäurestickstoffs (Rubriken 9 und 10).

Aus dieser Versuchsreihe kann man den Schluß ableiten, daß bei Steigerung des Gehaltes selbst einzelner Aminosäuren in der Nahrung die Quantität des freien Amidstickstoffs im Harn zunimmt, folglich eine Zunahme desselben auch im Blute wahrscheinlich wird, woher der Harn sein Material bekommt. Die Experimente mit dem 2. Hunde haben jedoch die Regelmäßigkeit, die am ersten beobachtet worden war, nicht ergeben: das Verhältnis des Amidstickstoffs zum Gesamtstickstoff bei einer nur aus Milch und Brot bestehenden Nahrung hat sich sogar als höher erwiesen als bei einer Nahrung, die Fleisch unter Zusatz einiger Aminosäuren enthielt. Bei Zusatz von Alanin erhielt man jedoch auch dieses Mal den höchsten Gehalt an Amidstickstoff, und zwar 2,2 °/₀ des Gesamtstickstoffs. Die Bestimmungen des Ammoniakgehaltes ergaben bedeutendere Schwankungen. Der Ammoniakstickstoff machte 3 bis 15 °/₀ des Gesamtstickstoffs aus. Das Abdestillieren des Ammoniaks ist ein sehr wichtiges Moment der ganzen Analyse und erheischt große Sorgfalt, da selbst ein geringfügiger Ammoniakrest bei der Bestimmung des Amidstickstoffs schon einen bedeutenden Fehler zur Folge haben kann.

In Anbetracht des Umstandes, daß die bei verschiedener Versuchsanordnung beobachtete Zunahme des Amidstickstoffs im Verhältnis zum Gesamtstickstoff während der Resorption

der Eiweißverdauungsprodukte keinen konstanten Charakter zeigte, haben wir unsere Experimente noch in einer Richtung fortgesetzt. Um imstande zu sein, Blutproben der Pfortader während der Verdauung zu entnehmen, die in, der Norm möglichst nahestehende, Bedingungen gebracht worden war, legten wir eine Pfortaderfistel in der gleichen Art an, wie auch Darmfisteln angelegt werden. Die Technik dieser Operation ist von E. S. London[1]) in den mit mir zusammen ausgeführten Arbeiten ausführlich beschrieben und infolgedessen möchte ich auf dieselbe nicht weiter eingehen. Ich möchte nur sagen, daß man mittels einer in das zentrale Ende der V. lienalis an ihrer Mündungsstelle in die Pfortader eingesetzten Glaskanüle mit einem nach außen hinausgeleiteten Gummiröhrchen sich Zugang zum Gefäß verschaffen und durch Entfernung des Pfropfens und Hervorziehung des Gerinnsels von Zeit zu Zeit aus der Pfortader eine beliebige Blutmenge erhalten kann. Am 3. Tage nach der Fistelanlegung frißt der Hund gewöhnlich schon mit großem Appetit seine Nahrung und kann während der ganzen Verdauungsperiode im Gestell bleiben. Die Kontrollblutprobe wurde nüchtern, die übrigen zu verschiedener Zeit nach der Fütterung entnommen. Bisweilen wurden noch parallele Proben aus der V. jugularis genommen, um das Blut der Pfortader mit demjenigen der peripherischen Vene zu vergleichen.

Die gewonnenen Blutproben wurden, bisweilen nach vorhergehender Defibrinierung, zentrifugiert, das Serum sofort vorsichtig abgegossen und, falls Blutkörperchen mit hinübergekommen waren, wieder zentrifugiert. Zunächst wurden die gewonnenen Sera noch mit einer 10fachen Alkoholquantität behufs Beseitigung der gerinnbaren Eiweißsubstanzen bearbeitet. Bei den weiteren Experimenten wurde jedoch die Bestimmung des Amidstickstoffs und des Gesamtstickstoffs sogleich ausgeführt, ohne daß das Serum zuvor einer Bearbeitung unterzogen wurde. Dadurch erübrigen sich die Zwischenprozeduren der Fällung, Filtrierung und Eindampfung, die immer Fehlerquellen abgeben können; zugleich wird die ganze Analyse vereinfacht. Die absoluten Zahlen sind hierbei größer. Das Ver-

[1]) London und Dobrowolskaja, Zeitschr. f. physiol. Chem. 82, 1912/1913; 87, 130, 1913.

hältnis des Amidstickstoffs zum Gesamtstickstoff ändert sich jedoch relativ wenig. Die Details der einzelnen Experimente wolle man in den Protokollen nachsehen.

Experiment 53.

Der Hund wurde am 26. XI. operiert und am 28. XI. in das Gestell gebracht. Es wurden Proben nüchtern und 4 Stunden nach der Fütterung mit Fleisch und Milch entnommen, die zuvor enteiweißt worden waren.

Kontrollprobe:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{1{,}12^{1)}}{7{,}7} = 14{,}5\,\%.$$

Versuchsprobe 4 Stunden nach der Fütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{1{,}12}{9{,}66} = 13\,\%.$$

Experiment 54.

Derselbe Hund am 29. IX. Außer der Bestimmung des gesamten Nicht-Eiweiß- und des Amidstickstoffs im mittels Alkohol enteiweißten Serum wurde noch die Bestimmung des Trockenrückstandes ausgeführt, wozu stets vollkommen gleiche Serummengen verwendet wurden.

Kontrollprobe:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{0{,}84}{8{,}82} = 9{,}5\,\%;$$ Trockenrückstand 0,0276 g.

2 Stunden nach Gliadinfütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{2{,}52}{8{,}82} = 28{,}6\,\%;$$ Trockenrückstand 0,0604 g.

4 Stunden nach der Fütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{2{,}24}{13{,}72} = 16{,}3\,\%;$$ Trockenrückstand 0,0296 g.

Außerdem gaben sämtliche Proben negative Biuretreaktion.

Experiment 55.

Hund mit Fistel im Anfangsteil des Ileum. Am 2. I. 1913 wurde eine Fistel der Pfortader angelegt, am 5. I. der Hund auf den Experimentiertisch gebracht. Der Pfortader wurden Blutportionen von je 50 ccm entnommen; davon wurden 25 ccm mit Alkohol bearbeitet und dann wie im vorhergehenden Experiment analysiert: in den übrigen 25 ccm wurden Amid- und Gesamtstickstoff ohne jede vorhergehende Behandlung des gewonnenen Serums bestimmt.

Kontrollprobe:

a) $$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{0{,}56}{6{,}3} = 8{,}9\,\%;$$ Trockenrückstand 0,06.

b) $$\frac{\text{Amid-N des Serums}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4{,}2}{67{,}2} = 6{,}2\,\%.$$

---

[1]) Die absoluten Zahlen sind in Milligramm angegeben.

$2\frac{1}{2}$ Stunden nach der Fütterung mit Fleisch und Milch:

a) $\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{0,84}{8,12} = 10,3\,\%$; Trockenrückstand 0,0614.

b) $\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,08}{48,9} = 6,3\,\%$.

$4\frac{1}{2}$ Stunden nach der Fütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-Nichteiweiß-N}} = \frac{0,84}{8,4} = 10\,\%;\ \text{Trockenrückstand 0,0614.}$$

Biuretreaktion in allen Proben negativ.

Experiment 56

an demselben Hund am 8. I. Das Serum wurde wie in allen weiteren Experimenten ohne jegliche vorangehende Behandlung untersucht. Analysiert wurden stets 5 ccm.

Kontrollprobe:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,5}{53,7} = 6,5\,\%.$$

2 Stunden nach Gliadinfütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4,2}{52,7} = 8\,\%.$$

4 Stunden nach der Fütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,78}{52,5} = 7,2\,\%.$$

$5\frac{1}{2}$ Stunden nach der Fütterung:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4,2}{51,8} = 8,1\,\%.$$

10. I. Die Kanüle ist herausgefallen. Der Hund ist gesund.

Experiment 57.

Der Hund wurde am 17. IV. operiert, das Experiment am 19. IV. vorgenommen. Es wurden gleichzeitig Proben aus der Pfortader und der Vena jugularis genommen.

Kontrollprobe:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,36}{43,58} = 7,7\,\%; \quad \frac{3,64}{44,9} = 8,2\,\%.$$

2 Stunden nach Fütterung mit Milch und Fleisch:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,3}{43,58} = 7,6\,\%; \quad \frac{3,43}{44,45} = 7,7\,\%.$$

4 Stunden nach der Fütterung:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,85}{43,58} = 8,9\,\%; \quad \frac{3,92}{45,15} = 8,7\,\%.$$

Die Dialysate sämtlicher Proben ergaben negative Biuretreaktion.

Experiment 58.

Der Hund wurde operiert am 7. VI., das Experiment vorgenommen am 9. VI. Die Proben wurden der Pfortader und der V. jugularis gleichzeitig entnommen und jedesmal 5 ccm Serum analysiert.

Kontrollprobe:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,36}{44,1} = 7,6\,\%; \quad \frac{3,36}{45,5} = 7,4\,\%.$$

3 Stunden nach Fütterung mit Milch und Fleisch:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,08}{41,65} = 7,4\,\%; \quad \frac{3,64}{44,45} = 8,2\,\%.$$

6 Stunden nach der Fütterung:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{2,52}{41,3} = 6,1\,\%; \quad \frac{3,08}{41,65} = 7,4\,\%.$$

Experiment 59.

Hund mit Darmfistel. Anlegung der Venenfistel am 17. VI. Experiment am 19. VI. Im allgemeinen dieselbe Versuchsanordnung. Außerdem wurden Dialyseproben folgendermaßen ausgeführt: 2 ccm Serum in der Hülse, 15 ccm Wasser außerhalb derselben, $1^1/_2$ Tage unter Toluol. Dann wurden vom Boden 5 ccm Dialysat genommen, 0,1 ccm einer $1\,\%$igen Triketohydrindenhydratlösung zugesetzt und 1 Minute lang gekocht. Die übrigen 5 ccm desselben Dialysats dienten für die Biuretreaktion.

Kontrollprobe:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{2,8}{45,85} = 6,1\,\%; \quad \frac{2,8}{45,5} = 6,2\,\%.$$

Die Dialysate haben mit Triketohydrindenhydrat eine negative Reaktion ergeben.

Hierauf wurde der Hund um $11^1/_2$ Uhr mittags mit Fleisch und nucleinsaurem Natron gefüttert. Außerdem bekam er um 2 Uhr 200 ccm Chymus von einem anderen Hunde mit Jejunumfistel, der gleichzeitig mit dem ersten Hunde mit Fleisch und nucleinsaurem Natron gefüttert worden war, langsam in den Darm injiziert. Gegen 3 Uhr wurde die erste Versuchsblutportion entnommen.

Erste Portion nach der Fütterung:

V. jugularis — Pfortader

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{2,66}{39,9} = 6,7\,\%; \quad \frac{3,64}{40,6} = 9,0\,\%.$$

Dialysat hellviolett — Dialysat hellviolett

Um 4 Uhr wurden in den Darm weitere 200 ccm Chymus von einem anderen Hunde injiziert und um 4 Uhr 45 Minuten die zweiten Blutproben entnommen.

Zweite Portion nach der Fütterung:

V. jugularis: $\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{2,24}{37,1} = 6,0\,^0/_0$; Dialysat leicht violett

Pfortader: $\frac{3,08}{43,05} = 7,1\,^0/_0$. Dialysat ergab ein negatives Resultat

Um 6 Uhr wurden weitere 280 ccm Chymus injiziert und um 6 Uhr 45 Minuten die dritten Blutportionen entnommen.

Dritte Portion nach der Fütterung:

V. jugularis: $\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{2,52}{34,65} = 7,3\,^0/_0$; Dialysat violett

Pfortader: $\frac{3,08}{45,5} = 6,8\,^0/_0$. Dialysat hellviolett

Sämtliche Proben auf Biuretreaktion ergaben ein negatives Resultat.

Experiment 60.

Hund mit Darmfistel. Pfortaderfistel angelegt am 14. VI. Experiment ausgeführt am 16. VI. Es gelang nicht, Blut der Pfortader zu entnehmen, weil die Kanüle sich gegen die Seite der Pfortader stemmte. Man mußte sich mit Proben aus der V. jugularis begnügen. Nach Entnahme der Kontrollproben wurden mittels Spritze in den Darm langsam 200 ccm einer $5\,^0/_0$igen Alaninlösung eingeführt.

Kontrollprobe:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,64}{61,6} = 5,9\,^0/_0.$$

Dialysat mit Triketohydrindenhydrat negativ.

I. 5 Minuten nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,64}{59,85} = 6,1\,^0/_0.$$

II. 15 Minuten nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4,48}{61,95} = 7,2\,^0/_0.$$

III. 25 Minuten nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,64}{61,25} = 5,9\,^0/_0.$$

Probe mit Dialyse leicht violett.

IV. 35 Minuten nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{3,08}{63,1} = 4,9\,^0/_0.$$

Dialysenprobe positiv.

V. 1 Stunde nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4,2}{60,9} = 7,0\,^0/_0.$$

VI. 2 Stunden nach der Injektion:

$$\frac{\text{Amid-N}}{\text{Gesamt-N des Serums}} = \frac{4,2}{59,5} = 7,1\,^0/_0.$$

Dialysat mit Ninhydrin ergab stark positive Reaktion.

Aus den mitgeteilten Protokollen geht klar hervor, daß während des Verdauungsvorganges ein Schwanken des Amidstickstoffs sowohl im Blute der Pfortader als auch im ganzen Blutkreislauf stattfindet. Zunächst nimmt das Verhältnis des Amidstickstoffs zum Gesamtstickstoff mehr oder minder stark zu, im weiteren Verlauf tritt in verschiedenen Zeiträumen (meistenteils gegen 4 Stunden) bisweilen gleichsam eine Verringerung dieses Verhältnisses ein, an deren Stelle aber wieder ein Aufstieg treten kann. Es macht sich hier somit eine gewisse Periodizität geltend, deren Beständigkeit aus allen Experimenten deutlich hervorgeht. Die Ursache dieser Schwankungen, wenn sie durch weitere Beobachtungen bestätigt werden sollten, könnte auf die Notwendigkeit, die Zufuhr aus dem Darm zu regulieren, auf die Unmöglichkeit für den Organismus, seine Überfüllung mit Eiweißderivaten zuzulassen, zurückgeführt werden: jeder Überschuß derselben muß entweder von den Zellen für ihren laufenden Bedarf ausgenutzt oder aber durch Synthese in eigentliches Gewebseiweiß verwandelt werden, bevor eine neue Zufuhr aus dem Darm stattfinden darf. In der Tätigkeit des Magendarmkanals kennen wir diese Periodizität gut, da bei Fistelhunden der Abgang von Chymus aus der Fistel ab und zu für mehr oder minder lange Zeit unterbrochen wird. Sie erstreckt sich allem Anschein nach auch auf den Resorptionsprozeß.

Daß zu dieser Erwägung ein gewisser Grund vorhanden ist, können wir daraus ersehen, daß wir vollkommen machtlos sind, unter Bedingungen, die der Norm einigermaßen nahestehen, die Konzentration des Amidstickstoffs im Blute der Pfortader künstlich zu erhöhen. Ich denke hierbei an unser Experiment 59. Der Hund bekam Fleisch mit nucleinsaurem Natron per os. Außerdem wurde ihm durch die Fistel von Zeit zu Zeit Chymus injiziert, der von der entsprechenden Fistel eines anderen, mit derselben Nahrung gefütterten Hundes stammte. In den ersten 3 bis 4 Stunden haben wir Zunahme des Amidstickstoffs von 6,2 bis 9% in der Pfortader bzw. 6,1 bis 6,7% in der V. jugularis konstatiert. Dann aber begann dieses prozentuale Verhältnis sich zu verringern, trotzdem Chymus weiter injiziert wurde. Als wir zum letztenmal in den Darm die größte Chymusmenge, nämlich 280 ccm, injiziert hatten, sank das prozentuale Verhältnis des Amidstickstoffs

zum Gesamtstickstoff in der Pfortader auf 6,8 %, wobei die Konzentration des Gesamtstickstoffs bei unverändert gebliebener Konzentration des Amidstickstoffs sich merklich vergrößerte. Zu gleicher Zeit war auch die Konzentration des Amid- und Gesamtstickstoffs im peripheren Blute bedeutend niedriger, jedoch erreichte das prozentuale Verhältnis des Amidstickstoffs zum Gesamtstickstoff seine höchste Zahl, nämlich 7,3 %. Dieses Bild dürfte man wahrscheinlich folgendermaßen erklären können: Indem wir in den Darm den Chymus eines anderen Hundes in großer Quantität injizierten, steigerten wir auf einmal in hohem Maße die Quantität, vielleicht auch die Konzentration der Eiweißverdauungsprodukte im Lumen des Darmes, vergrößerten also das endosmotische Äquivalent seines Inhaltes. Auf so etwas reagiert der Organismus bekanntlich mit einem Flüssigkeitsstrom aus dem Blute in der Richtung zum Darmlumen und mit Verlangsamung der Resorption.

Von diesem Standpunkte aus, den uns die letzte Versuchsreihe aufdrängt, werden vielleicht auch die Unbeständigkeit der Resultate der akuten Experimente und die Rolle der Narkose, bei der wegen der degenerativen Prozesse in den Zellen ein Übertritt von verschiedenen Spaltungsprodukten des Eiweißmoleküls möglich ist, und noch vieles andere in unseren noch im Dunkel schwebenden Versuchen verständlich werden. Es liegt klar auf der Hand, daß dies alles im Lichte neuer Untersuchungen vielleicht eine andere Beleuchtung erfahren wird. Ohne vorläufig imstande zu sein, auf die Frage zu antworten, wo die Synthese des Eiweißes stattfindet (wahrscheinlich gibt es viele solcher Stellen), können wir die periodische Zunahme des Amidstickstoffs im Blute während der Verdauung als feststehend betrachten. Nach der Erklärung Abderhaldens auf dem letzten Internationalen medizinischen Kongreß in London, daß es ihm gelungen sei, Aminosäure in reinem Zustande aus dem Blutdialysat zu gewinnen, kann man diese Zunahme des Amidstickstoffs mit größerem Recht als Index für den Übergang einzelner Aminosäuren aus dem Darmlumen in das Blut betrachten.

Wirkung des kolloiden Schwefels auf die Autolyse.

Von

Antonio Fagiuoli.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der k. Universität Catania.)

(Eingegangen am 19. September 1913.)

In einer Reihe von Arbeiten[1]) unserer Schule ist dargetan, daß eine Zahl anorganischer, auf chemischem oder elektrischem Wege bereiteter Kolloide eine beschleunigende Wirkung auf die Leberautolyse ausübt. Im Anschluß an die Untersuchungen Izars[2]) aus diesem Institute über die Wirkung des kolloiden Schwefels auf ein übertragbares Rattensarkom habe ich es unternommen zu prüfen, ob auch der kolloide Schwefel eine die Autolyse begünstigende Wirkung ausübt.

Technik.

Als Untersuchungsmaterial benutzte ich frischen Leberbrei vom Rind, Hund, Affen. Zu gleichen Mengen desselben setzte ich steigende Mengen kolloiden Schwefels (Heyden, Kahlbaum) in wässeriger Emulsion, und füllte die einzelnen Proben durch Zusatz von Aq. dest. auf das gleiche Volumen auf. In der Kontrollprobe war die Kolloidsuspension durch die gleiche Menge Aq. dest. ersetzt. Die Aufschwemmungen wurden in Glaskölbchen mit Toluol überschichtet, in den Brutschrank (37°) gestellt und täglich wiederholt durchgeschüttelt. Nach Verlauf von 72 Stunden wurden die Kölbchen aus dem Brutschrank herausgenommen, 1°/$_0$ sauren Kaliumphosphats zugesetzt und die Aufschwemmung durch Kochen zur Gerinnung gebracht; es folgte Auffüllung auf das Ausgangsvolumen und Filtration; die Stickstoffbestimmung des Filtrats erfolgte nach Kjeldahl in doppelter Probe.

[1]) Diese Zeitschr. 6 bis 17. Zusammenfassung und Literaturübersicht bei M. Ascoli, Zeitschr. f. Industrie und Chemie der Kolloide 1909.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 15, 238.

In den folgenden Tabellen sind die erhaltenen Resultate zusammengestellt:

Tabelle I.

Nummer	Menge des Hunde-leber-breies g	Destill. H_2O ccm	1 ‰ wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Kahlbaum) ccm	S-Gehalt mg	Versuchs-dauer Std.	Nicht koagulierter N in 10 ccm Filtrat entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
1	20	210	—	—	72	2,8
2	20	209	1	1	72	4,2
3	20	207,5	2,5	2,5	72	3,8
4	20	205	5	5	72	3,6
5	20	200	10	10	72	4,3

Tabelle II.

Nummer	Menge des Hundeleber-breies g	Destill. H_2O ccm	Wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Heyden)	S-Gehalt mg	Versuchs-dauer Std.	Nicht koagulierter N in 10 ccm Filtrat entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
1	20	210	—	—	72	1,9
2	20	209	1 ccm 1 ‰0	0,1	72	2,4
3	20	205	5 „ 1 ‰0	0,5	72	2,8
4	20	207,5	2,5 „ 1 ‰	2,5	72	3,4
5	20	205	5 „ 1 ‰	5	72	4,0
6	20	200	10 „ 1 ‰	10	72	3,9
7	20	207,5	2,5 „ 1 %	25	72	3,5
8	20	205	5 „ 1 %	50	72	3,2
9	02	200	10 „ 1 %	100	72	2,6

Tabelle III.

Nummer	Menge des Rinderleber-breies g	Destill. H_2O ccm	Wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Heyden)	S-Gehalt mg	Versuchs-dauer Std.	Nicht koagulierter N in 10 ccm Filtrat entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
1	20	210	—	—	72	1,7
2	20	209	1 ccm 1 ‰0	0,1	72	2,6
3	20	205	5 „ 1 ‰0	0,5	72	2,8
4	20	207,5	2,5 „ 1 ‰	2,5	72	3,5
5	20	205	5 „ 1 ‰	5	72	3,6
6	20	200	10 „ 1 ‰	10	72	4,5
7	20	207,5	2,5 „ 1 %	25	72	3,8
8	20	205	5 „ 1 %	50	72	3,7
9	20	200	10 „ 1 %	100	72	2,9

Tabelle IV.

Nummer	Menge des Affenleberbreies g	Destill. H_2O ccm	Wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Heyden)	S-Gehalt mg	Versuchsdauer Std.	Nicht koagulierter N in 10 ccm Filtrat entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
1	10	160	—	—	0	3,9
2	10	159	1 ccm 1 ‰0	0,1	0	3,7
3	10	159	1 „ 1 ‰	1	0	3,8
4	10	159	1 „ 1 %	10	0	3,9
5	10	160	— —	—	72	3,5
6	10	159	1 ccm 1 ‰0	0,1	72	6,5
7	10	159	1 „ 1 ‰	1	72	6,9
8	10	159	1 „ 1 %	10	72	7,1

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß minimale Mengen (0,1 mg) kolloiden **Schwefels eine kräftige beschleunigende Wirkung auf die Leberautolyse entfalten**; diese Wirkung steigert sich bei steigendem Kolloidzusatze bis zur Menge von 10 mg (zu 20 g Leberbrei); bei weiterem Zusatze nimmt die Wirkung wieder ab. Die Erscheinung entspricht den von Izar[1]) beim Studium der Wirkung des Arsens auf die Autolyse erhobenen, von Laqueur[2]) bestätigten Befunden.

Außer auf normale Gewebe prüfte ich die Wirkung des kolloiden Schwefels auch auf Geschwulstgewebe: menschliches Lebercarcinom sowie Rattensarkom.

Tabelle V.

Nummer	Menge des Rattensarkombreies g	Destill. H_2O ccm	Wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Heyden)	S-Gehalt mg	Versuchsdauer Std.	Nicht koagulierter N in 50 ccm Filtrat entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
1	10	110	—	—	72	6,7
2	10	109	1 ccm red. auf 1 ‰0	0,1	72	13,0
3	10	109	1 „ „ „ 1 ‰	1	72	13,0
4	10	109	1 „ „ „ 1 %	10	72	15,6

[1]) Diese Zeitschr. 21, 1909.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 79.

Tabelle VI.

Nummer	Menge des menschlichen Lebercarcinombreies g	Destill. H_2O ccm	1 % wässerige Emulsion von kolloidem Schwefel (Heyden) ccm	S-Gehalt mg	Versuchsdauer Std.	Nicht koagulierter N in 50 ccm Filtrat entsprechend n/10-Säure ccm
1	25	160	—	—	72	11,5
2	25	159	1	10	72	28,5
3	25	157,5	2,5	25	72	26,5
4	25	155	5	50	72	11,0
5	25	150	10	100	72	13,0

Diese Befunde zeigen, daß der kolloide Schwefel auch die Autolyse von Geschwulstgewebe zu aktivieren imstande ist, und zwar in noch ausgesprochenerem Maße, als dies für die Leberautolyse der Fall ist.

Narkose und Sauerstoffverbrauch.

Von

Jacques Loeb und Hardolph Wasteneys.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.)

(Eingegangen am 24. September 1913.)

I.

Loeb hat im Jahre 1895 nachgewiesen, daß Sauerstoffentziehung die Furchung der Seeigeleier unterdrückt und daß ein direkt oxydationshemmendes Gift wie KCN dieselbe Wirkung hat. Es ist ferner, namentlich von Fühner[1]), der Nachweis geführt worden, daß Narkotica die Furchung des Seeigeleis ebenfalls unterdrücken. Das regte die Frage an, ob die Narkotica ihre spezifische Wirkung durch Hemmung der Oxydationen oder auf andere Weise zustande bringen.

Warburg[2]) hatte bereits beobachtet, daß Phenylurethan die Zellteilung im Seeigelei hemmt, ohne die Geschwindigkeit der Oxydationen im Ei zu verzögern. Wir gingen von folgender Überlegung aus. Wenn die Narkose durch eine Hemmung der Oxydationsvorgänge bedingt ist, so muß bei einer Unterdrückung der Zellteilungsvorgänge durch spezifische Narkotica die Geschwindigkeit der Oxydationsvorgänge im Ei um denselben Betrag vermindert werden, wie wenn wir die Zellteilungsvorgänge durch ein direkt oxydationshemmendes Mittel (beispielsweise KCN) unterdrücken. Wir stellten zunächst fest, um wieviel die Oxydationen durch diejenige Konzentration von KCN verringert werden, die gerade ausreicht, um die Furchung beim Seeigelei (Strongylocentrotus purpuratus) zu unterdrücken. Zusatz von 0,7 ccm einer $^1/_{100}\,^0/_0$igen KCN-Lösung zu 50 ccm Seewasser

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 51, 1, 1903; 52, 69, 1904.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 305, 1910.

unterdrückt die Furchungsvorgänge. Diese Konzentration drückte die Oxydationsvorgänge auf genau ein Drittel ihres normalen Wertes herunter. Wir stellten ferner diejenige Konzentration verschiedener spezifischer Narkotica fest, die gerade ausreicht, die Furchung des Eies zu unterdrücken. Wäre nun die Unterdrückung der Furchung mittels Narkotica durch Hemmung der Oxydationen bedingt, so sollte man erwarten, daß die Narkotica in der zur Furchungshemmung eben ausreichenden Konzentration die Geschwindigkeit der Oxydationen im Ei ebenfalls auf ein Drittel des natürlichen Wertes herabsetzen würden. Das ist nun nicht der Fall. Bezeichnen wir den Sauerstoffverbrauch einer gewissen Menge Eier unter normalen Bedingungen in einer Stunde mit 1, so ist der Sauerstoffverbrauch unter dem Einfluß der ausreichenden Dosis verschiedener Narkotica wie folgt.

Koeffizient der Oxydationsgeschwindigkeit unter dem Einfluß der Dosis verschiedener Narkotica, die gerade ausreicht, die Furchung zu unterdrücken[1]).

4,2 ccm	0,5 %iges	Chloralhydrat	in	50 ccm	Seewasser	0,88
3,0 „	10 „	Äthylurethan	„	50 „	„	0,98
7,0 „	0,5 „	Chloroform	„	43 „	„	0,87
4,0 „	10 m-	Methylalkohol	„	50 „	„	0,95
5,0 „	4 m-	Äthylalkohol	„	50 „	„	0,84
3,5 „	2 m-	Propylalkohol	„	50 „	„	0,92
7,0 „	m/2-	Butylalkohol	„	50 „	„	0,79

Sehen wir von Butylalkohol ab, so beträgt die Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit durch die Dosis verschiedener Anaesthetica, die gerade ausreicht die Furchung zu unterdrücken, 10 % oder noch weniger. Das ist also nur ein Sechstel der Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit, die wir beobachten, wenn wir die Furchung durch ein direkt oxydationshemmendes Mittel wie KCN aufheben. Wir müssen daraus schließen, daß die Unterdrückung der Furchung des Seeigeleis durch Narkotica nicht durch Verringerung der Oxydationen bestimmt ist. Die geringe Erniedrigung der Oxydationsgeschwindigkeit, die wir bei den spezifischen Narkoticis

[1]) Loeb und Wasteneys, Journ. of Biolog. Chem. 14, 517, 1913.

beobachten, ist vielleicht eine Folge der Narkose oder eine Nebenwirkung der Narkotica, aber nicht die Ursache der Hemmung der Zellfurchung. Die Narkotica müssen also wohl die Zellteilung durch Beeinflussung irgend einer anderen Variablen unterdrücken.

II.

Diese Versuche regten die weitere Frage an, ob es wahr ist, daß die Narkose bei Tieren durch Erstickung bedingt ist, wie das so oft behauptet wird. Es besteht über diesen Gegenstand eine umfangreiche Literatur, die dadurch charakterisiert ist, daß die meisten Autoren es nicht für nötig gehalten haben die Größe, auf die es ankommt, nämlich die Oxydationsgeschwindigkeit, zu messen[1]). Wenn wir wissen wollen, ob die Narkose eines Tieres durch Herabsetzung von Oxydationen bestimmt ist, so stoßen wir auf die Schwierigkeit, daß die Muskeln der Hauptsitz der Oxydationen sind, und daß eine kleine Erhöhung der Muskeltätigkeit oder des Muskeltonus die Oxydationen stark in die Höhe treibt. Wenn wir ein Tier narkotisieren, so wird die Muskeltätigkeit oder der Muskeltonus um eine unbekannte Größe erniedrigt und die Oxydationsgeschwindigkeit geht entsprechend herunter. Diese Erniedrigung der Oxydationsgeschwindigkeit ist aber die Folge, nicht die Ursache der Narkose. Man muß also derartige Versuche unter Bedingungen anstellen, bei denen die Muskeltätigkeit schon ohnedies so gering ist, daß der narkotische Schlaf eine weitere Herabsetzung nicht mehr herbeiführen kann. Wenn man nun bei solchen Tieren durch Chloroform (oder andere Narkotica) die Erregbarkeit gegen Reize aufheben kann, ohne daß die Oxydationsgeschwindigkeit verringert ist, so dürfen wir mit Sicherheit schließen, daß die Narkose nicht durch Verringerung der Oxydationsgeschwindigkeit bedingt ist.

Wir haben nun derartige Versuche an einem idealen Objekte, den Fischembryonen von Fundulus, die etwa eine Woche alt waren, ausgeführt. Diese liegen sehr ruhig im Ei

[1]) Eine kritische Besprechung dieser Literatur findet sich bei Winterstein (diese Zeitschr. 51, 143, 1913), der die wichtige Tatsache gefunden hat, daß auch anaerobiotische Tiere leicht narkotisiert werden, was, wie er mit Recht betont, unverständlich wäre, wenn die Narkose durch Herabsetzung der Oxydationen bedingt wäre.

und machen im allgemeinen nur selten eine Bewegung, die aber nur geringe Energie erfordert, da die Embryonen im wässerigen Eiinhalt suspendiert sind. Sie sind gegen Säure sehr empfindlich. Bringt man die Eier in $^m/_{25}$-HCl, so führen die sonst so ruhigen Embryonen die wilden Bewegungen aus, die für den dekapitierten Frosch unter den gleichen Bedingungen charakteristisch sind. Diese Empfindlichkeit verliert der Fisch, wenn er narkotisiert ist. Wir sahen in unseren Versuchen die Embryonen als narkotisiert an, wenn sie in einer $^m/_{25}$-HCl-Lösung zugrunde gingen, ohne mit irgendeiner Bewegung zu reagieren. Unsere Versuche haben nun das folgende Resultat ergeben:

1. Verringerung der Oxydationsgeschwindigkeit durch ein direkt oxydationshemmendes Mittel wie KCN bewirkt keine Narkose, selbst wenn man die Geschwindigkeit der Oxydationen auf $^1/_9$ ihres normalen Wertes herabsetzt. Man erhält erst ein Aufhören der Empfindlichkeit gegen Säure, wenn man die Geschwindigkeit der Oxydationen mittels KCN längere Zeit unter diese Größe herabdrückt.

2. Man kann mittels Chloroform die Reaktion der Embryonen gegen Säure völlig aufheben und die tiefste Narkose herbeiführen, ohne daß die Geschwindigkeit der Oxydationen überhaupt herabgesetzt ist.

Dieses Resultat läßt nur eine Deutung zu: Die Aufhebung der Reizbarkeit in der Chloroformnarkose ist bei den Embryonen von Fundulus nicht durch Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit bestimmt.

III.

Die Methode der Versuche bestand darin, daß der Sauerstoffverbrauch einer gegebenen Menge von Embryonen, die etwa eine Woche alt waren, bei 18° in 1 Stunde im Thermostaten bestimmt wurde. Die Analyse des Sauerstoffgehaltes des Seewassers wurde nach der Winklerschen Methode ausgeführt. Zuerst wurde der Sauerstoffverbrauch der Embryonen in normalem Seewasser bestimmt; dann wurden dieselben Embryonen in die Lösung des Narkoticums (z. B. Chloroform in Seewasser) gebracht und von Zeit zu Zeit bei einer größeren Zahl von Individuen festgestellt, ob dieselben noch auf Säure

reagierten. Sobald alle darauf geprüften Individuen aufhörten auf Säure zu reagieren, wurde der Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei derselben Temperatur in Gegenwart des Narkoticums bestimmt. Die Tiere waren also schon in tiefster Narkose, als die Messung ihrer Oxydationstätigkeit in der Gegenwart des Narkoticums begann. Zu Ende des Versuches wurde die Reaktion der Tiere wieder geprüft und nur solche Versuche als beweiskräftig angesehen, bei denen die Tiere am Ende des Versuches ebenfalls in tiefster Narkose gefunden wurden.

Auch für die Versuchsreihe mit KCN wurde erst der Sauerstoffverbrauch der Embryonen in normalem Seewasser gemessen, dann wurden dieselben Embryonen in Seewasser gebracht, dem eine bestimmte Menge KCN zugesetzt war und nach einiger Zeit (etwa nach 1 Stunde) wurden die Embryonen in eine frische KCN-Lösung derselben Konzentration übertragen, in der der Sauerstoffverbrauch bestimmt wurde.

Über die Methode der Sauerstoffbestimmung haben wir in früheren Arbeiten bereits alles Nötige mitgeteilt.

IV.

Wir behandelten die Fischembryonen mit verschiedenen Konzentrationen von KCN, bestimmten den Sauerstoffverbrauch pro Stunde und untersuchten, wie weit man die Oxydationsgeschwindigkeit mittels KCN heruntersetzen muß, um die Tiere zu narkotisieren, d. h. um die Tiere dazu zu bringen, daß sie in einer $^{m}/_{25}$-HCl-Lösung ohne alle Körperbewegung zugrunde gehen. Diese Versuche sollen der Reihe nach beschrieben werden.

Die Temperatur war in allen Versuchen 18°, die Dauer jedes Versuches 1 Stunde.

Da das KCN, oder richtiger das durch hydrolytische Dissoziation gebildete HCN, nur langsam in das Ei diffundiert, so nimmt die Konzentration des HCN im Embryo nur langsam zu. Es ist also zu erwarten, daß die oxydationshemmende Wirkung einer bestimmten Konzentration von KCN um so größer ist, je länger der Fisch in der Lösung bleibt. Es ist ferner selbstverständlich, daß mit zunehmender Konzentration des KCN im Seewasser auch in einer gegebenen Zeit die Konzentration des HCN im Embryo zunimmt. Der folgende Versuch diene als Beispiel.

Der Sauerstoffverbrauch einer Masse Embryonen war in normalem Seewasser in 1 Stunde bei 18° 1,14 mg. Dann wurden die Eier in Seewasser gebracht, das in 50 ccm 3 ccm $^1/_{10}$ % KCN enthielt. Die Eier blieben in dieser Lösung 1 Stunde. Dann wurden sie in eine neue Lösung genau der gleichen Konzentration in das Atmungsgefäß gebracht. Der Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde war nunmehr 0,23 mg. Die Oxydationsgeschwindigkeit war also rund auf $^1/_5$ ihres normalen Wertes gesunken. Die Geschwindigkeit der Herzschläge war von 15 Sekunden auf 49 Sekunden für 20 Pulsationen herabgesetzt, aber trotz des Abfalls der Oxydationsgeschwindigkeit reagierten die Embryonen in normaler Weise gegen die Säure.

Wir ließen nun die Embryonen in dieser KCN-Lösung und warteten ab, bis dieselben aufhörten auf Säure zu reagieren. Nach 5 Stunden waren die „Schmerzreaktionen" gegen Säure noch vorhanden; nach 6 Stunden waren sie aber verschwunden. Die Zirkulation hatte aufgehört, und 20 Herzschläge erfolgten in 105 Sekunden. Wir bestimmten nunmehr wieder den Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei 18° bei denselben Embryonen und fanden 0,08 mg. Die Eier wurden in normales Seewasser zurückgebracht, und am nächsten Morgen hatten alle Embryonen wieder völlig normale Zirkulation und Herzschlag; sie reagierten normal gegen Säure.

Die direkte Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit mittels KCN führt also erst dann zur Narkose, wenn die Oxydationsgeschwindigkeit auf $^1/_{14}$ ihres ursprünglichen Wertes gesunken ist. Eine Herabsetzung auf $^1/_5$ ihres normalen Wertes hat keinen narkotischen Effekt, obwohl die Geschwindigkeit der Herzschläge erheblich verzögert ist.

Der nächste Versuch zeigt, daß eine direkte Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit auf $^1/_9$ keinerlei Narkose bedingt. Bei einer Masse von Embryonen war der Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei 18° in normalem Seewasser 1,35 mg. Dann wurden die Eier $1^1/_2$ Stunde in 50 ccm Seewasser + 6 ccm $^1/_{10}$ % KCN gebracht, und dann wurde in einer ebensolchen Lösung der Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei 18° bestimmt. Wir fanden 0,15 mg, also eine Herabsetzung auf $^1/_9$ seines ur-

sprünglichen Wertes. Diese Embryonen waren aber am Ende dieses Versuches nicht narkotisiert, da sie in der Säure die lebhaftesten Bewegungen ausführten. Die Geschwindigkeit der Herztätigkeit war von 10,6 Sekunden bis auf 67 Sekunden für 20 Pulsationen herabgesetzt. Wir stellen in Tabelle I alle Versuche mit KCN zusammen.

Tabelle I.

Versuch	$^1/_{10}$ % KCN in 50 ccm Seewasser ccm	Fische in der KCN-Lösung vor Beginn des Versuches Minuten	Sauerstoffverbrauch bei 18° in 1 Stunde mg
1	0,0	—	0,94
	0,5	30	0,70 Keine Narkose
2	0,0	—	1,03
	1,0	90	0,82 Keine Narkose
3	0,0	—	0,45
	3,0	60	0,09 Keine Narkose
4	0,0	—	1,14
	3,0	60	0,23 Keine Narkose
	3,0	360	0,08 Narkose (!)
5	0,0	—	1,35
	6,0	90	0,15 Keine Narkose

Die Versuche geben ein einwandfreies Resultat: **Durch direkte Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit mittels KCN bis auf $^1/_9$ ihres normalen Wertes wird bei Fundulusembryonen keine Narkose erzielt; erst wenn die Oxydationsgeschwindigkeit unter diesen Wert sinkt, tritt Narkose ein.**

V. Versuche mit Chloroform.

Bei den Versuchen mit Chloroform wurde folgendermaßen verfahren. Der Sauerstoffverbrauch einer Portion Embryonen (etwa eine Woche alt) wurde erst während 1 Stunde bei 18° in normalem Seewasser gemessen. Dann wurden dieselben Eier in Seewasser mit einem bestimmten Chloroformgehalt gebracht. Von Zeit zu Zeit wurden Embryonen in Säure gebracht und festgestellt, ob sie noch gegen die Säure mit Bewegungen reagierten. Erst wenn die Tiere aufhörten auf Säure zu reagieren, wurden sie in ein Seewasser-Chloroformgemisch der-

selben Konzentration gebracht und nun der Sauerstoffverbrauch während 1 Stunde ebenfalls bei 18° gemessen. Obwohl die Narkose meist so weit ging, daß die Zirkulation völlig still stand, war der Sauerstoffverbrauch so gut wie nicht verringert. Die minimale Chloroformkonzentration, die Narkose bei Fundulusembryonen herbeiführt, ist 0,07 % in Seewasser. Um sicher zu gehen, benutzten wir nur Konzentrationen von 0,08 % oder darüber. In allen Fällen, mit Ausnahme des letzten Versuches, erholten sich die Embryonen völlig von der Narkose, nachdem sie in Seewasser zurückgebracht waren. Tabelle II gibt das Resultat der Versuche.

Tabelle II.

Sauerstoffverbrauch von Fundulusembryonen in Seewasser und in tiefster Chloroformnarkose.

Versuch	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei 18° mg	Oxydationskoeffizient
1	Normales Seewasser	0,34	1,00
	0,08 % Chloroform	0,33	0,97
2	Normales Seewasser	0,36	1,00
	0,08 % Chloroform	0,34	0,95
3	Normales Seewasser	0,74	1,00
	0,09 % Chloroform	0,62	0,84
4	Normales Seewasser	1,51	1,00
	0,1 % Chloroform	1,10	0,73
5	Normales Seewasser	0,52	1,00
	0,1 % Chloroform	0,52	1,00
6	Normales Seewasser	1,00	1,00
	0,14 % Chloroform	0,95	0,95
7	Normales Seewasser	0,46	1,00
	0,20 % Chloroform	0,30	0,65

In Versuch 7 trat keine völlige Erholung der narkotisierten Tiere ein. Sehen wir von diesem Versuche ab, so erhalten wir das Resultat, daß bei vollständiger Chloroformnarkose keine nachweisbare Abnahme der Oxydationsgeschwindigkeit eintritt. Dieser Versuch beweist, daß tiefe Narkose ohne Abnahme der Oxydationsgeschwindigkeit möglich ist.

VI. Versuche mit Äther.

Die minimale Konzentration des Äthers, die erforderlich ist, um die Fundulusembryonen zu narkotisieren, ist 0,92 °/₀ in Seewasser. Die Methode war dieselbe wie in den voraufgehenden Versuchen. Die Resultate sind in Tabelle III enthalten.

Tabelle III.

Sauerstoffverbrauch von Fundulusembryonen in tiefster Äthernarkose.

Versuch	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch in 1 Stunde bei 18° mg	Oxydations-Koeffizient
1	Normales Seewasser	0,78	1,00
	1 °/₀ Äther in Seewasser	0,38	0,49
2	Normales Seewasser	0,85	1,00
	1 °/₀ Äther in Seewasser	0,45	0,64
3	Normales Seewasser	1,45	1,00
	1 °/₀ Äther in Seewasser	1,07	0,74

Es ist auffallend, daß Äther die Oxydationen etwas mehr herabsetzt als Chloroform. Das aber muß eine spezifische Nebenwirkung des Äthers sein, die mit der Narkose an sich nichts zu tun haben kann, da ja die Chloroformnarkose ohne Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit möglich ist. In Versuch 3 war die Verminderung der Oxydationsgeschwindigkeit im Äther nur 26 °/₀, und trotzdem war völlige Narkose vorhanden.

Schließlich sei noch ein Versuch mit Butylalkohol erwähnt; 12 ccm $^m/_2$-Butylalkohol in 50 ccm Seewasser genügte zur völligen Narkose. Wir stellten nur einen Versuch an.

Sauerstoffverbrauch in normalem Seewasser . . 1,08 mg
Sauerstoffverbrauch bei 12 ccm $^m/_2$-Butylalkohol
in 50 ccm Seewasser . . . . 0,79 mg

Es fand eine Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit um 27 °/₀ statt.

VII. Versuche an Medusen.

Unsere bisherigen Versuche sind alle an befruchteten Eiern resp. Embryonen angestellt worden. Wir wollten nun auch unser Resultat an erwachsenen Tieren prüfen. Wir wählten zu diesem

Zwecke kleine Medusen (Gonionemus), weil sie die Anwendung der Winklerschen Methode gestatten. Bei den Eiern verfuhren wir so, daß wir den Sauerstoffverbrauch derselben erst in normalem Seewasser bestimmten und dann in Chloroform oder KCN. Diese Methode war erlaubt, weil weder für die Seeigeleier noch für die Embryonen Muskelbewegungen in Betracht kommen. Die Medusen aber führen unregelmäßige Muskelbewegungen aus, und das macht es unmöglich, aus einem Vergleich zwischen deren Sauerstoffverbrauch in normalem Seewasser und in der Narkose Schlüsse zu ziehen. Es ist sicher, daß bei solchen Tieren die Muskelruhe in der Narkose eine Herabsetzung des Sauerstoffverbrauchs bedingen muß.

Es stand uns aber ein anderer Weg offen. Wir können die Tiere sowohl durch direkte Oxydationshemmung (mittels KCN) als auch durch Narkose zur völligen Ruhe zwingen. Wir können alsdann die Frage aufwerfen: Wie verhält sich die Oxydationsgeschwindigkeit in der durch KCN erzwungenen Ruhe und Unerregbarkeit zu der Oxydationsgeschwindigkeit und in der durch ein spezifisches Narkoticum bedingten Ruhe und Unerregbarkeit. Als Narkoticum benutzten wir Äthylurethan. Wir fanden, daß 2,5 ccm $^1/_{10}$ % KCN in 50 ccm Seewasser eben ausreicht, um nach kurzer Zeit alle spontanen Bewegungen und Reaktionen auf äußere Reize zu unterdrücken, und daß 8,5 ccm einer 10%igen Äthylurethanlösung (in Seewasser) zu 50 ccm Seewasser genau den gleichen Effekt hat. Die Medusen blieben 1 Stunde in der KCN resp. der Urethanlösung, ehe ihre Oxydationen gemessen wurden (wozu sie natürlich in eine frische Lösung übertragen wurden). Wir verfuhren nun so, daß wir eine gewisse Menge von Medusen erst 1 Stunde in KCN brachten, uns überzeugten, daß sie nicht mehr auf Reize reagierten und dann ermittelten, wieviel Sauerstoff sie in einer frischen KCN-Lösung in 75 Minuten bei 18° verbrauchten. Dann wurden sie in Seewasser gebracht, bis sie sich erholt hatten, dann für 1 Stunde in Äthylurethan-Seewasser gebracht, ihre Reaktionslosigkeit festgestellt und dann ihr Sauerstoffverbrauch in 75 Minuten in einer frischen Äthylurethanlösung bei 18° bestimmt. Tabelle IV gibt das Resultat.

Tabelle IV.

Sauerstoffverbrauch von Gonionemus in 75 Minuten bei 18°.

Versuch	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch mg
1	2,5 ccm $^1/_{10}$ % KCN in 50 ccm Seewasser	0,11
	8,5 „ 10 % Äthylurethan in 50 ccm Seewasser .	0,38
2	50 ccm Seewasser	1,01
	8,5 „ 10 % Äthylurethan in 50 ccm Seewasser .	0,44
	2,0 „ $^1/_{10}$ % KCN in 50 ccm Seewasser	0,10
	8,5 „ 10 % Äthylurethan in 50 ccm Seewasser .	0,26
3	8,0 ccm 10 % Äthylurethan in 50 ccm Seewasser .	0,59
	2,0 „ $^1/_{10}$ % KCN in 50 ccm Seewasser	0,09

Die Versuche ergeben, daß auch bei Gonionemus für die Unterdrückung aller Reaktionen mittels direkter Hemmung der Oxydationen durch KCN eine 3 bis 6 mal stärkere Verminderung der Oxydationsgeschwindigkeit erforderlich ist als bei der Herbeiführung derselben Reaktionslosigkeit durch ein spezifisches Anaestheticum wie Äthylurethan.

Will jemand behaupten, daß Narkose durch Oxydationshemmung (oder Erstickung) bedingt ist, so muß er den Nachweis führen, daß zur Narkose mittels eines typischen Narkoticums dieselbe Verminderung der Oxydationsgeschwindigkeit erforderlich ist, wie für die Herbeiführung der Reaktionslosigkeit mittels eines direkt oxydationshemmenden Mittels wie KCN. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß die spezifische Wirkung der Narkotica in den hier beschriebenen Versuchen nicht durch Verminderung der Oxydationsgeschwindigkeit bedingt ist.

Daß Narkotica, namentlich in einer höheren Konzentration, auch die Oxydationsgeschwindigkeit herabsetzen können, wollen wir nicht in Abrede stellen; aber für die Erklärung der Narkose kann in den hier geschilderten Versuchen diese Tatsache nicht in Betracht kommen.

In Versuch 2 der letzten Tabelle haben wir auch eine Messung des Sauerstoffverbrauchs von Gonionemus in normalem Seewasser mitgeteilt. Derselbe ist $2^1/_2$ mal so groß wie in Äthylurethan. Es wäre natürlich falsch, diesen Umstand als Ursache der Narkose zu deuten; er ist vielmehr eine Folge der Aufhebung der Bewegungen und der Muskelspannung des normalen Tieres durch das Narkoticum.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Arbeit enthält Versuche an Fischembryonen und Medusen zur Entscheidung der Frage, ob Narkose — d. h. reversible Unempfindlichkeit gegen die stärksten Reize — durch Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit bestimmt ist. Es wird gezeigt:

1. daß zur Herbeiführung der Unempfindlichkeit bei Fischembryonen durch direkte Hemmung der Oxydationen mittels KCN eine länger dauernde Verringerung der Oxydationsgeschwindigkeit auf $^1/_{14}$ ihres normalen Wertes nötig ist, und daß eine Verringerung auf $^1/_9$ keine Unempfindlichkeit herbeiführt;

2. daß, im Gegensatz dazu, der Zustand tiefster Narkose bei den Fischembryonen durch Chloroform herbeigeführt werden kann, ohne daß überhaupt eine in Betracht kommende Verminderung ihrer normalen Oxydationsgeschwindigkeit stattfindet;

3. daß Unempfindlichkeit gegen starke Reize durch Äther und Butylalkohol möglich ist, ohne daß die Oxydationsgeschwindigkeit um mehr als 26 $^0/_0$ herabgesetzt wird;

4. daß bei Medusen die Aufhebung der Motilität und Reaktionsfähigkeit gegen Reize durch direkte Oxydationshemmung mittels KCN erst bei einer 3 bis 6 mal so starken Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit eintritt, wie die Aufhebung der Reaktionsfähigkeit mittels Äthylurethan.

Da diese Resultate in demselben Sinne ausfallen wie die früheren Versuche von Warburg und von Loeb und Wasteneys an Seeigeleiern, so sind wir geneigt zu schließen:

1. daß die Narkose mittels Chloroform, Äther, Alkoholen, Chloralhydrat, Urethan und anderen spezifisch narkotischen Mitteln nicht durch Verringerung der Oxydationsgeschwindigkeit, sondern durch eine andere Wirkung dieser Stoffe bedingt ist;

2. daß eine etwaige Herabsetzung der Oxydationsgeschwindigkeit durch die spezifischen Narkotica, die gelegentlich bei der Narkose beobachtet wird, entweder eine Folge der durch Narkose bedingten Untätigkeit der Muskeln (oder anderer Organe) oder eine Nebenwirkung der Narkotica ist, die mit der Herbeiführung der Narkose in keinem notwendigen Zusammenhang zu stehen braucht. Es scheint ja aus den Versuchen von Vernon sowohl wie denjenigen von Warburg hervorzugehen, daß für die Hemmung der Oxydationen viel höhere Konzentrationen der Narkotica nötig sind wie für die Narkose.

Über die physiologische Wirkung des kolloiden Kohlenstoffs.

Von

G. Izar und C. Patané.

(Aus dem Institute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der k. Universität Catania.)

(Eingegangen am 19. September 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

Bekanntlich findet beim Durchleiten des galvanischen Stromes zwischen in sauren oder alkalischen wässerigen Lösungen eingetauchten Kohlenelektroden eine Zerstäubung der Anode statt. In sauren Flüssigkeiten fällt das Zerstäubungsprodukt der anodischen Kohle fast vollständig als schwarzes Pulver auf den Boden des elektrolytischen Gefäßes nieder, während die Flüssigkeit farblos bleibt; in alkalischer Lösung ergibt die Elektrolyse eine intensiv schwarz gefärbte Flüssigkeit und einen geringen Bodensatz schwarzen Pulvers.

Das systematische Studium dieses Prozesses wurde 1879 von Bartoli und Papasogli[1]) in Angriff genommen und führte die Autoren zur Annahme der Bildung einer besonderen, schwarzen, wasserlöslichen (besonders in warmem Wasser löslichen), besser in Ammoniak und den Hydraten und Carbonaten der Alkali-Metalle löslichen Substanz, die sie in Anbetracht ihrer Fähigkeit, mit konzentrierter Salzsäure und mit Alkali-Hypochloriten Mellithsäure zu bilden, Mellogen nannten. Später (1896) wurde diese eigentümliche Substanz von Coehn[2])

[1]) Atti della r. Accademia dei Lincei 8, 89, 1879 bis 1880. — Nuovo Cimento 8, 278, 1880; **10**, 207, 1881; **12**, 141, 1883. — Naturforschung **14**, 122. — Journ. de Phys. **10**, 458. — Gazzetta chimica italiana **11**, 237 und 468, 1881; **12**, 113 und 117 und 125, 1882; **15**, 461, 1885.

[2]) Zeitschr. f. Elektrochem. **2**, 544 und 616; **3**, 424.

und von Vogel[1]) studiert, ohne daß wesentlich neue Befunde zutage gefördert wurden. Kürzlich hat Vanzetti[2]) das Studium des Bildungsprozesses, der physikalischen Eigenschaften und der chemischen Natur dieser Substanz wieder aufgenommen. Vanzetti kommt in seiner ersten vorläufigen Mitteilung zu dem Schlusse, daß „das durch Zerstäubung von Kohlenelektroden in verdünnter Schwefelsäure bereitete, sog. Mellogen, ein negativ geladenes Kolloid darstellt, das in reinem Wasser und in alkalischen Flüssigkeiten höchst stabile Suspensionen ergibt".

Das liebenswürdige Entgegenkommen des Herrn Prof. Vanzetti, der uns sein Präparat zur Verfügung stellte, ermöglichte es uns, einige Untersuchungen über die biologische Wirkung dieser Substanz auszuführen. In trockenem Zustande stellt dieselbe eine schwarze glänzende, brüchige Masse, die auch in warmem Wasser nur schwer, leicht in Anwesenheit kleiner Alkalimengen löslich ist, dar. Die durch Auflösung des Präparates in mit Natronlauge alkalisiertem Wasser bereiteten, dann mittels Durchleitung eines Kohlensäurestromes neutralisierten und vom Kohlensäureüberschusse durch Kochen befreiten Pseudolösungen passieren die dichtesten Filter, erweisen sich als sehr stabil, bieten deutlich das Tyndallsche Phänomen, sind ultramikroskopisch mikronenhaltig, nicht dialysabel. In der Hitze eingeengt, bilden sie beim Erkalten echte, schwarzbraune, glänzende Gallerten; liefern beim Zusatz von Säure dem Mellogen identische Niederschläge; im Kataphoreseapparat wandert das Mellogen nach der Anode.

Wir haben die Giftigkeit dieser Präparate, ihre Wirkung auf die Gesamtautolyse, auf die Harnsäurebildung und Zerstörung und auf den Kohlensäureumsatz untersucht.

Wirkung auf die Gesamtautolyse.

Wir befolgten die in früheren Arbeiten[3]) ausführlich beschriebene Technik; benutzt wurden frische Rinder-, Hunde-

---

[1]) Zeitschr. f. Elektrochem. 2, 581 und 650; 4, 123.

[2]) Atti del r. Istituto veneto di scienze, lettere et arti 72, II, 445 und 1057 und 1065. — Kolloid-Zeitschr. 18.

[3]) Diese Zeitschr. 6 und 17.

und Taubenlebern; die Enteiweißung erfolgte nach Embden und Knoop[1]).

Versuch 1.

24. IV. 1913.

72stündige Autolyse bei 37° von 5 g Taubenleberbrei bei Zusatz von

Dest. H_2O ccm	C I[2]) nicht stabil.[3]) ccm	Nicht koaguliert. N in 25 ccm Filtrat, entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
50	—	21,0
49	1	21,5
45	5	20,7
37,5	12,5	21,3
—	50	21,2

Versuch 2.

29. IV. 1913.

72stündige Autolyse bei 37° von 10 g Rinderleberbrei bei Zusatz von

Dest. H_2O ccm	C II[2]) stabil.[3]) ccm	Nicht koaguliert. N in 25 ccm Filtrat, entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
90[4])	—	6,5
90	—	27,0
89,9	0,1	27,7
89	1	28,8
85	5	31,3
65	25	28,7

Versuch 3.

2. V. 1913.

72stündige Autolyse bei 37° von 10 g Rinderleberbrei bei Zusatz von

Dest. H_2O ccm	C II[2]) stabil. 1%[3]) ccm	1%ige Gelatinelösung ccm	Nicht koagul. N in 25 ccm Filtrat, entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
80	—	—	37,2
70	10	—	38,3
70	—	10	38,2
79	1	—	36,6
79	—	1	37,0

Versuch 4.

11. VI. 1913.

72stündige Autolyse bei 37° von 20 g Hundeleberbrei bei Zusatz von

Dest. H_2O ccm	C II[2]) stabil. 1%[3]) ccm	$^n/_{100}$-HCl-Lösung ccm	$^n/_{100}$-NaOH-Lösung ccm	Nicht koagulierter N in 25 ccm Filtrat, entsprechend $^n/_{10}$-Säure ccm
250	—	—	—	16
50	—	200	—	25
50	—	—	200	11,4
200	50	—	—	16,5
—	50	200	—	23
—	50	—	200	10

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 123.

[2]) C I = 1‰ Mellogenpseudolösung.
C II = 0,5% „

[3]) nicht stabil. = nicht stabilisiert.
stabil. = stabilisiert durch Zusatz von 1 ccm 1% dialysierter Gelatinelösung zu 100 ccm Mellogenpseudolösung.

[4]) Kontrollprobe sofort koaguliert.

Wie aus den Versuchen 1 bis 4 hervorgeht, üben die Mellogenpseudolösungen (kolloider Kohlenstoff) keinen Einfluß auf die Gesamtautolyse der Leber aus. Es sei hier daran erinnert, daß im Gegensatze zu diesem indifferenten Verhalten des kolloiden Kohlenstoffs, nach den von Yoshimoto[1]) und Laqueur[2]) bestätigten Befunden Bellazzis[3]) aus unserem Institute (damals in Pavia), die Kohlensäure eine fördernde Wirkung auf die Leberautolyse zeigt.

Wirkung auf die Harnsäurebildung und Zerstörung.

Die Technik dieser Versuche ist gleichfalls die in früheren Untersuchungen dargelegte[4]). Die Wirkung auf die Ū-Bildung wurde an Rindermilz- und -leberbrei, jene auf die Uricolyse an Rindernierenbrei und Brei gewaschener Hundenieren geprüft.

Versuch 1.

27. V. 1913.

1 kg Rinderleberbrei + 4 l NaCl-Lösung[5]) + 35 ccm Chloroform. Nach 2stünd. Schütteln im Schüttelapparat durch Gaze koliert.

Kolatur ccm	NaCl-Lösung ccm	C II stabil. ccm	Ū gefunden nach 48stündiger Autolyse bei 37° mg
500[6])	100	—	25,2
500	100	—	52,4
500	99	1	56,5
500	95	5	60,0
500	75	25	72,7
500	50	50	73,1
500	—	100	79,7

Versuch 2.

10. VI. 1913.

500 g Rindermilzbrei + 2 l NaCl-Lösung + 20 ccm Chloroform. Nach 2stünd. Schütteln im Schüttelapparat durch Gaze koliert.

Kolatur ccm	NaCl-Lösung ccm	C II stabil. ccm	Ū gefunden nach 48stündiger Autolyse bei 37° mg
400[6])	100	—	7,3
400	100	—	19,2
400	95	5	30,2
400	75	25	40,3
400	—	100	52,3

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 58.
2) Ebenda 79.
3) Ebenda 54.
4) Ebenda 58, 62, 64, 65, 72.
5) Die NaCl-Lösung ist immer 0,85 %.
6) Kontrollprobe sofort koaguliert.

Versuch 3.

1. VI. 1913.

250 g Rindernierenbrei + 2 l NaCl-Lösung + 15 ccm Chloroform. Nach 2stünd. Schütteln im Schüttelapparat durch Gaze koliert. Zusatz zur Kolatur von 2 g $\overline{U}$ in n/10-NaOH-Lösung[3]).

Kolatur	NaCl-Lösung	C II stabil.	$\overline{U}$ gefunden nach 72stündiger Autolyse bei 37° unter Luftdurchleitung[4])
ccm	ccm	ccm	mg
250[2])	100	—	207
250	100	—	84
250	99	1	88
250	95	5	102
250	75	25	125
250	—	100	170

Versuch 4.

10. VI. 1913.

250 g Brei von gewaschener[1]) Hundeleber + 2 l NaCl-Lösung + 15 ccm Chloroform. Nach 2stünd. Schütteln im Schüttelapparat durch Gaze koliert. Zusatz zur Kolatur von 2 g $\overline{U}$ gelöst in n/10-NaOH-Lösung[3]).

Kolatur	NaCl-Lösung	C II stabil.	$\overline{U}$ gefunden nach 72stündiger Autolyse bei 37° unter Luftdurchleitung[4])
ccm	ccm	ccm	mg
250[2])	100	—	213
250	100	—	111
250	99	1	103
250	95	5	116
250	75	25	145
250	—	100	180

Demnach beschleunigen Mellogenpseudolösungen (kolloider Kohlenstoff) kräftig die Harnsäurebildung in autolysierendem Rindermilz- und -leberbrei, während sie eine hemmende Wirkung auf die Uricolyse in Rindernieren- und gewaschenem Hundeleberbrei entfalten.

Diese Wirkung gleicht jener für eine Reihe anderer Kolloide von M. Ascoli und mir[5]) festgestellten und entspricht ferner der von Preti[6])[7]) festgestellten Zunahme der $\overline{U}$-Ausscheidung im Harne nach Inhalation von Kohlensäure im bestimmten Verhältnisse.

Während also das Mellogen auf die Gesamtautolyse, wie wir früher gesehen, keinen greifbaren Einfluß entfaltet, besitzt es eine ausgesprochene Wirkung auf die $\overline{U}$-Bildung. Es scheint

[1]) Nach Entblutung des Hundes wird die Leber von der Pfortader aus mit ca. 10 l NaCl-Lösung durchspült.

[2]) Die zur Lösung der Harnsäure erforderliche Menge.

[3]) Kontrollprobe sofort koaguliert.

[4]) Der Luftstrom wurde vorher durch eine Reihe großer, konzentrierte Natronlauge enthaltende Kolben durchgeleitet.

[5]) Diese Zeitschr. **6** und **17**. Zusammenfassung und Literaturübersicht bei M. Ascoli, Zeitschr. f. Industrie und Chemie der Kolloide **1909**.

[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **58**, **62**, **64**, **65**, **73**.

[7]) Gazzetta degli ospedali e delle Cliniche **1911**, Nr. 137.

diese Unabhängigkeit der Wirkung auf die Ū-Bildung von jener auf die Gesamtautolyse deshalb bemerkenswert und interessant, weil die bisher von uns untersuchten Kolloide zwar die Ū-Bildung elektiv, immer aber gleichzeitig auch die Gesamtautolyse begünstigten. Dieses Verhalten regt zu analogen Stoffwechseluntersuchungen mit Mellogen an.

Toxische Wirkung.

Die Giftigkeit der Mellogenlösungen wurde an Kaninchen, weißen Ratten, Tauben und Sperlingen untersucht; die Einverleibung erfolgte auf intravenösem Wege[1]). Wir führen einen Teil unserer zahlreicheren Versuche an.

25. IV. 1913.

Kan. Nr. 730	1060 g	20 ccm CI nicht stabil. iv.[2])	Dyspnoe, Cheyne-Stokes, Paralyse. † 10 Min. Obduktionsbefund: Hyperämie der inneren Organe, Fibringerinnsel im rechten Herzen.
„ „ 731	1110 g	15 ccm CI nicht stabil. iv.	Zittern, Tachypnoe; erholt sich nach 2 Std.; tot gefunden am 26. IV.
„ „ 732	1030 g	20 ccm CI nicht stabil. iv.	Tachypnoe; erholt sich nach 1 Std.
„ „ 734	1000 g	20 ccm CI stabil. iv.	Tachypnoe; erholt sich nach 30 Min.
„ „ 735	1140 g	10 ccm CI stabil. iv.	10^h morgens: Keinerlei Symptome. 1^h nachm.: Dyspnoe. $1^h 30'$ „ Tachypnoe. 2^h „ Paralyse der hinteren Extremitäten. 3^h „ Allgemeine Paralyse. $3^h 30'$ „ †. Obduktionsbefund: Hyperämie der inner. Organe; Blut flüssig.

30. IV. 1913.

Kan. Nr. 754	1000 g	10 ccm CI stabil. iv.	Keinerlei Symptome.
„ „ 755	980 g	do.	do.
„ „ 756	850 g	do.	do.
„ „ 757	960 g	5 ccm CI stabil. iv.	Tachypnoe; † nach 60 Min. Sektionsbefund wie Kan. Nr. 735.
„ „ 760	900 g	do.	Keinerlei Symptome.
„ „ 761	830 g	do.	do.
„ „ 762	900 g	do.	do.

[1]) In die Ohrvene beim Kaninchen, in die Flügelvene bei der Taube und dem Sperling, in die Schwanzvene bei der Ratte.

[2]) intravenös.

14. V. 1913.

Kan. Nr. 764	1100 g	30 ccm CII nicht stabil. iv.	Tachypnoe; erholt sich nach 60 Min.
" " 766	1200 g	20 ccm CII nicht stabil. iv.	$10^h 30'$ morg.: Keinerlei Symptome. 2^h nachm.: Dyspnoe. $2^h 30'$ " Paralyse der hinteren Extremitäten. $2^h 40'$ " Cheyne-Stokes; Krämpfe. $2^h 45'$ " †. Obduktionsbefund: Hyperämie der inneren Organe; Blut flüssig, gerinnt sofort.
" " 767	1000 g	10 ccm CII nicht stabil. iv.	Tachypnoe.
" " 768	1140 g	5 ccm CII nicht stabil. iv.	Keinerlei Symptome.

16. V. 1913.

Kan. Nr. 780	1100 g	30 ccm CII stabil. iv.	Leichte Dyspnoe.
" " 781	1130 g	do.	† 90 Min. Sektionsbefund wie Kan. Nr. 766.
" " 782	1010 g	20 ccm CII stabil. iv.	Tachypnoe.
" " 783	1070 g	do.	Leichte Dyspnoe.
" " 784	960 g	10 ccm CII stabil. iv.	† 23 Min. Sektionsbefund wie Kan. Nr. 766.

17. V. 1913.

Kan. Nr. 785	800 g	10 ccm CII stabil. iv.	Keinerlei Symptome.
" " 787	840 g	do.	† 120 Min. Sektionsbefund wie Kan. Nr. 766.
" " 789	820 g	do.	Leichte Dyspnoe.
" " 790	830 g	do.	† 80 Min. Sektionsbefund wie Kan. Nr. 766.
" " 791	870 g	do.	Sofort keinerlei Symptome. † 11^h morgens am nächsten Tage (18. V.) unter starken Krämpfen. Obduktionsbefund wie Kan. Nr. 766.

18. V. 1913.

Kan. Nr. 800	1000 g	20 ccm CII stabil. iv.	Dyspnoe.
" " 801	1100 g	do.	Keinerlei Symptome.
" " 802	1035 g	do.	† 18 Min. Obduktionsbefund wie Kan. Nr. 766.
" " 803	1015 g	do.	Dyspnoe.
" " 804	1015 g	do.	Dyspnoe; tot gefunden am 19. V.

30. IV. 1913.

Taube Nr. 535	360 g	1 ccm C I nicht stabil. iv.	Keinerlei Symptome.
„ „ 536	365 g	2 ccm C I nicht stabil. iv.	do.
„ „ 537	375 g	3 ccm C I nicht stabil. iv.	Leichte Dyspnoe.
„ „ 539	375 g	3 ccm C I stabil. iv.	do.
„ „ 540	370 g	4 ccm C I stabil. iv.	Starke Dyspnoe.
„ „ 541	390 g	do.	do.

10. V. 1913.

Taube Nr. 573	270 g	4 ccm C II nicht stabil. iv.	Starke Dyspnoe.
„ „ 574	260 g	do.	do.
Ratte „ 812	125 g	1 ccm C I stabil. iv.	do.; tot gefunden am 11. V.
„ „ 813	110 g	0,5 ccm C I stabil. iv.	Keinerlei Symptome.
„ „ 817	135 g	1 ccm C II stabil. iv.	Dyspnoe; tot gefunden am 11. V.
„ „ 818	120 g	0,5 ccm C II stabil. iv.	Leichte Dyspnoe.

2. V. 1913.

Sperling Nr. 1017	0,5 ccm C I nicht stabil. iv.	Dyspnoe; erholt sich.
„ „ 1019	do.	do. do.
„ „ 1020	do.	do. do.
„ „ 1021	0,5 ccm C I stabil. iv.	do. do.
„ „ 1023	do.	do.; † nach 180 Min.
„ „ 1025	do.	do.; erholt sich.
„ „ 1026	do.	do.; † nach 35 Min.
„ „ 1027	0,5 ccm C II stabil. $1^0/_0$ [1]) iv.	Starke Dyspnoe.
„ „ 1028	do.	Tachypnoe.
„ „ 1030	0,5 ccm C II stabil. $2^0/_0$ iv.	† 30 Min.
„ „ 1031	do.	Dyspnoe; erholt sich.
„ „ 1032	do.	Cheyne-Stokes; † nach 10 Min.
„ „ 1033	do.	Dyspnoe; erholt sich.
„ „ 1034	do.	do. do.
„ „ 1036	0,5 ccm C II stabil. $3^0/_0$ iv.	do. do.
„ „ 1037	0,5 ccm C II stabil. $4^0/_0$ iv.	do. do.
„ „ 1040	0,5 ccm C II stabil. $5^0/_0$ iv.	do. do.

[1]) Stabil. $1^0/_0$, $2^0/_0$ usf. bedeutet: stabilisiert mit Zusatz von 1 resp. 2 ccm usf. $1^0/_0$iger dialysierter Gelatinelösung in 100 ccm Mellogenpseudolösung.

Wie sich aus den Protokollen ergibt, ruft die venöse Einspritzung großer Mengen von Mellogen (kolloidaler Kohlenstoff) bei Kaninchen, weißen Ratten, Tauben, Sperlingen starke Dyspnoe hervor: nur ein Bruchteil der Tiere erliegt der Einspritzung unter bulbären Erscheinungen. Die Toxizität ist nicht absolut, da die Mehrzahl der Tiere auch bei Einverleibung beträchtlicher Mengen der Pseudolösungen (Kaninchen bis zu 25 bis 30 ccm) durchkommt, während paradoxerweise einige wenige Tiere schon erheblich geringeren Mengen erliegen, obwohl die Einspritzung mit der gleichen Geschwindigkeit erfolgt und obwohl es sich um Tiere gleichen Gewichtes handelt.

Wirkung auf die Temperaturkurve.

Diese Versuche wurden an Kaninchen vorgenommen. Die folgenden Tabellen zeigen in Übereinstimmung mit weiteren gleichartigen, auf deren Wiedergabe wir verzichten, daß die Pseudomellogenlösungen (kolloider Kohlenstoff), intravenös eingeführt, keinen wesentlichen Einfluß auf die Körpertemperatur ausüben.

14. V. 1913.

Kan. Nr. . .	771	772	773	774
Gewicht g .	1175	1140	1240	1050
10h Temp. °C	39,8	39,8	39,7	39,2
10h 5′	10 ccm dest. H_2O iv.	10 ccm C I nicht stabil. iv.	5 ccm C I nicht stabil. iv.	1 ccm C I nicht stabil. iv.
	°C	°C	°C	°C
10h 30′	39,8	39,5	40,5	39,6
11h	40,3 [1]	39,7 [2]	41,0 [1]	40,2
11h 30′	40,4 [1]	39,8 [2]	41,0 [1]	40,5
12h	40,2	39,3	41,2 [1]	40,4
13h	40,0	35,9 [3]	41,6 [1]	40,9
14h	39,8	36,1	41,6	40,4
15h	39,6	35,9	41,0	39,8
16h	39,5	†	40,8	39,6
17h	39,8		40,6	39,5

[1]) Tachypnoe.
[2]) Dyspnoe.
[3]) Paralyse.

16. V. 1913.

Kan. Nr. . .	781	783	784
Gewicht g . .	1130	1070	960
9h30′ Temp. °C	39,1	39,0	39,0
C II nicht stabil. iv.	30 ccm um 10h15′	20 ccm um 10h20′	10 ccm um 10h22′
	°C	°C	
11h	37,3 [1]	38,6 [2]	† 10h45′
12h	† 11h45′	39,1	—
13h	—	39,3	—
14h	—	39,5	—
15h	—	39,4	—
16h	—	39,5	—
17h	—	39,4	—

17. V. 1913.

Kan. Nr. . . .	787	789	790	791
Gewicht g . . .	840	820	830	870
9h15′ Temp. °C	39,1	39,2	39,1	39,3
9h45′	10 ccm C II nicht stabil. iv.			
	°C	°C	°C	°C
11h	39,9 [1]	40,2 [1]	38,3 [1]	39,6
12h	† 11h45′	39,9	† 11h05′	37,9 [1]
13h	—	39,8	—	36,9 [1]
14h	—	39,5	—	36,7 [1]
15h	—	39,0	—	36,8 [1]
16h	—	38,9	—	37,0 [1]
17h	—	38,8	—	37,3 [3]

18. V. 1913.

Kan. Nr. . .	800	801	802	803	804
Gewicht g .	1000	1100	1035	1015	1015
9h Temp. °C	39,2	39,5	38,6	39,4	38,5
9h15′	20 ccm C II stabil. iv.				
	°C	°C		°C	°C
10h	38,5	39,0	† 9h33′	40,0 [1]	38,0 [2]
11h	39,0 [2]	40,1 [2]	—	39,6 [1]	37,8 [1]
12h	39,7 [2]	40,0 [2]	—	39,8	37,5 [1]
13h	39,9 [2]	39,8 [2]	—	39,7	37,2 [1]
14h	39,5 [2]	39,5	—	39,6	37,0 [1]
15h	39,5	39,7	—	39,4	37,5 [1]
16h	39,3	39,5	—	39,5	37,8
17h	39,0	39,3	—	39,5	37,9 [4]

[1]) Dyspnoe.
[2]) Tachypnoe.
[3]) tot gefunden am nächsten Morgen.
[4]) Paralyse.

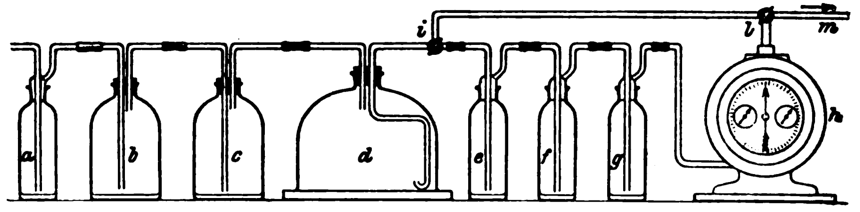


Fig. 1.

a bis *e*: Drechselsche Flaschen mit mit Schwefelsäure durchtränkten Bimsteinstücken.
b „ *c*: Flaschen von etwa 5 l Inhalt enthaltend 4 l gesättigte wässerige NaOH-Lösung.
d: Respirationskammer.
f „ *g*: Drechselsche Flaschen von etwa 500 ccm Inhalt mit bestimmter Menge Barytlösung nach Saussure-Hesse (1,7 g eines Gemisches von 20 Teilen $Ba(OH)_2$ und 1 Teil $BaCl_2$ auf 1 l H_2O destilliert).
h: Gasuhr.
i „ *l*: Dreiweghähne.
m: Wasserstrahlpumpe.

Wirkung auf den Kohlenstoffumsatz.

Wir bedienten uns eines dem Haldaneschen[1]) ähnlichen Apparates, der in obiger Abbildung wiedergegeben ist.

Die Handhabung des Apparates ist einfach.

Nachdem das Versuchstier unter die Glasglocke gebracht ist und die Dreiweghähne in der Weise eingestellt sind, daß *e*, *f*, *g*, *h* ausgeschlossen sind, wird die Wasserpumpe in Aktion gesetzt und ein konstanter und nicht zu heftiger Luftstrom durchgeleitet. Nach einer gewissen Zeit (20 bis 30 Min.) werden durch gleichzeitige Drehung der mit *i* und *l* bezeichneten Dreiweghähne *e*, *f*, *g* und *h* eingeschaltet und weiter 10 bis 15 Min. Luft durchgeleitet; dann werden durch entgegengesetzte Bewegung der Hähne *e*, *f*, *g*, *h* wieder ausgeschaltet.

Die ausgeschiedene Kohlensäure wird aus der mittels Titrierung nach Pettenkofer[2]) mit Oxalsäurelösung (2,8636 g Oxalsäure pro Liter) neutralisierten Bariumhydratmenge be-

[1]) Vgl. Tigerstedt in Handb. d. Physiol. Methodik 1, III, S. 99, 1911, und J. E. Johanson in Abderhaldens Handb. d. Biochem. Arbeitsmethoden 3, 1150, 1910.

[2]) F. Müller, Biolog. Gasanalyse. Ebenda S. 611.

stimmt: 1 ccm Oxalsäurelösung entspricht 1 mg CO_2. Als Indicator wird eine alkoholische Phenolphthaleinlösung (1 : 250) benutzt.

Das Gasometer dient zur Kontrolle der Geschwindigkeit des Luftstromes und der vollständigen Absorption der Kohlensäure.

Versuch 1. 29. IV. 1913.

Kaninchen, 1630 g.

I. Periode: $10^h 15'$ bis $10^h 30'$ . . . . . 157,62 mg CO_2
$10^h 40'$: 15 ccm C I iv.: Leichte Dyspnoe.
II. „ : $11^h 15'$ bis $11^h 30'$ . . . . . 287,74 mg CO_2

Versuch 2. 30. IV. 1913.

Kaninchen, 1200 g.

I. Periode: $2^h 24'$ bis $2^h 39'$ . . . . . . 120,07 mg CO_2
II. „ : $2^h 55'$ „ $3^h 10'$ . . . . . . 112,21 mg CO_2
$3^h 15'$: 10 ccm C II iv.: Keinerlei Symptome.
III. „ : $3^h 45'$ bis 4^h . . . . 160,61 mg CO_2
IV. „ : $4^h 15'$ „ $4^h 30'$ . . . . . . 152,43 mg CO_2
V. „ : $5^h 20'$ „ $5^h 35'$ . . . . . . 135,12 mg CO_2

Versuch 3. 1. V. 1913.

Kaninchen, 1000 g.

I. Periode: $9^h 45'$ bis 10^h . . . . 104,31 mg CO_2
II. „ : $10^h 03'$ - $10^h 18'$ . . . . . 98,86 mg CO_2
$10^h 25'$: 10 ccm destill. H_2O iv.
III. „ : $10^h 58'$ bis $11^h 13'$ . . . . . 101,83 mg CO_2
IV. „ : $11^h 25'$ „ $11^h 40'$ . . . . . 99,97 mg CO_2
V. „ : $12^h 30'$ „ $12^h 45'$ . . . . . 110,42 mg CO_2

Die Versuche, von denen wir nur einen Teil beispielsweise anführen, führten zu folgenden Ergebnissen:

Die Mellogenpseudolösungen (kolloider Kohlenstoff) bewirken, intravenös eingespritzt, eine enorme Zunahme der ausgeatmeten Kohlensäure im Vergleiche zu Tieren, denen die gleiche Menge Aqua dest. eingespritzt wird. Die erhöhte CO_2-Ausscheidung geht bis zu einem gewissen Punkte der eingespritzten Mellogenmenge parallel.

Untersuchungen über die fermentativen Eigenschaften des Blutes.

II. Weitere Untersuchungen über peptolytische Fermente normaler Tiere.

Von

Ludwig Pincussohn und Hellmuth Petow.

(Aus der II. medizinischen Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 22. September 1913.)

Mit 12 Figuren im Text.

Vor einiger Zeit konnte der eine von uns[1]) zeigen, daß dem Serum des normalen Hundes ein Ferment eigen ist, welches befähigt ist, ein Pepton, das aus blutfrei gewaschenen Muskeln des Hundes dargestellt worden war, abzubauen. In dieser Arbeit wurde der Vermutung Raum gegeben, daß es sich hierbei nicht um eine dem Hunde allein zukommende Eigenschaft handelt, sondern daß man voraussichtlich im Serum aller Tiere Fermente erwarten dürfe, die Abbauprodukte höherer Art, die entweder aus Zelltrümmern oder vielleicht auch aus anderen Quellen herstammen, aus dem Organismus auszuschalten vermögen. Wir wissen ja, daß höhere Eiweißabbauprodukte, und wahrscheinlich gilt dies ebenso für die höheren Derivate anderer Körperklassen, vom Blute als Fremdkörper empfunden werden.

Wie aus älteren Arbeiten hervorgeht, bildet der Organismus gegen artfremdes Eiweiß und ebenso gegen artfremde Kohlenhydrate Fermente, die von Abderhalden zuerst Schutzfermente, später Abwehrfermente genannt worden sind und deren Aufgabe es ist, diese Körper zu möglichst unschädlichen Abbaustufen zu zerkleinern. In der Schwangerschaft[2]) lernten

---

[1]) Diese Zeitschr. 51, 107, 1913.

[2]) Abderhalden, Freund und Pincussohn, Prakt. Ergebn. d. Geburtshilfe u. Gynäk. 2 (II), 367, 1909.

wir einen Vorgang kennen, bei dem im Organismus selbst gebildetes Material, nämlich die Chorionzotten, die in die Blutbahn abgestoßen werden, in ähnlicher Weise wirkt, wie von außen zugeführtes artfremdes Material: es bilden sich Fermente, die imstande sind, Placentaeiweiß bzw. Placentapepton abzubauen.

Eine gewaltig anschwellende Literatur ist in den letzten Monaten über die Frage entstanden, ob auch von irgendwie erkrankten Organen herstammendes Eiweiß, das, vielleicht chemisch verändert — wenn hierfür bisher auch kaum irgendein Beweis vorliegt — in die eigene Blutbahn kommt, ebenso wirken kann, wie das immerhin dem mütterlichen Organismus fremde Eiweiß der Chorionzotten, oder in höherem Grade ein Eiweiß, das mit dem Körpereiweiß gar keine Ähnlichkeit aufweist.

Es fällt aus dem Rahmen dieser Mitteilung, über die vielfach positiven Beantwortungen der aufgeworfenen Frage zu diskutieren; es scheint festzustehen, daß unter Umständen eigenes, krankhaftes Körpereiweiß Anlaß geben kann zur Mobilisierung eiweißspaltender Fermente.

In den meisten der auf diese Frage bezüglichen Arbeiten ist neuerdings die Dialysiermethode angewendet worden, die den Abbau von koaguliertem Gewebseiweiß demonstriert. Die Technik dieser Methode, die darauf beruht, daß in eine Dialysierhülse das betreffende Blutserum zusammen mit einem Stück des koagulierten Gewebes eingebracht wird, der Inhalt gegen Wasser dialysiert wird und in letzterem nach Ablauf einer gewissen Zeit auf die Anwesenheit von Eiweißspaltprodukten gefahndet wird, ist von Abderhalden außerordentlich exakt angegeben worden, und die positiven Resultate, die bei genauer Beachtung der Regeln erhalten werden, sind daher als zuverlässig zu betrachten. Es hat sich nun wiederholt eine Diskrepanz herausgestellt zwischen den auf diesem Wege gewonnenen Ergebnissen und den Resultaten, die mit Hilfe der optischen Methode erzielt worden sind. Diese Verschiedenheit ist weiter nicht verwunderlich: handelt es sich doch um zwei verschiedene Fermentarten, deren Wirksamkeit durch diese Reaktionen offenbart wird. Bei der Spaltung des koagulierten Gewebseiweißes sehen wir die Wirkung eines proteolytischen Ferments, einer Protease, bei dem Abbau der bei der optischen

Methode als Substrat dienenden Peptone die Wirkung eines peptolytischen Ferments, einer Peptase. Es liegt ja durchaus kein Grund vor, bei den „Abwehrfermenten“ anzunehmen, daß sie, wie z. B. das Trypsin, beide Wirkungen in sich vereinigen. Übrigens wird von verschiedenen Seiten betont, daß auch dem Trypsin die peptische und proteolytische Wirkung nicht als einem einzigen Ferment zukommt, sondern daß auch hier verschiedene Fermente anzunehmen sind.

Ähnliches scheint nun auch für den Abbau normalen Organeiweißes beim gesunden Tiere zu gelten. Lampé und Papazolu[1]) haben für den normalen Menschen, Abderhalden für einzelne Tiere gezeigt, daß normales Serum koaguliertes Organeiweiß nicht abbaut. Wenn die Versuche mit dem Dialysierverfahren auch kaum eine Kopie der Verhältnisse im Organismus bilden — hat man doch im Organismus genuines Eiweiß, beim Dialysierversuch koaguliertes —, so ist dies wohl nicht von großer Bedeutung. Gesundes, funktionstüchtiges Eiweiß wird im Organismus sicher nicht abgebaut, sondern nur solches Eiweiß, wenigstens soweit Körpereiweiß in Betracht kommt, das „tot“ ist, d. h. seiner Aufgabe im Organismus nicht mehr zu genügen vermag.

Immerhin dem Leben ähnlicher liegen die Verhältnisse, die wir studieren, wenn wir den Abbau von Peptonen durch Fermente beobachten. Nach unseren jetzigen Kenntnissen ist die Stufe der Peptone eine solche, die vom Eiweiß bei einem Abbau durchlaufen werden muß. Jedes Eiweiß muß diese Stufe passieren, das gesunde wie das kranke Eiweiß. Da also alles Eiweiß, besonders das der funktionsuntüchtig gewordenen Zellen, das dem Abbau verfallen ist, diese Peptonstufe passieren muß, können wir uns über die Art und Weise des Abbaus im Organismus einige Vorstellungen machen. Wir wissen, daß die Zelle selbst der Sitz autolytischer Fermente ist, die den Abbau der Zelle wenigstens bis zu einem bestimmten Punkte vornehmen. Wir wissen andererseits, daß durchaus nicht der gesamte Abbau des Eiweißes ein autolytischer ist, sondern daß bestimmte Organe, in erster Linie die Leber, einen Teil des definitiven Abbaus besorgen. Daß die primären Bausteine der Eiweißkörper, die Aminosäuren, im Blute frei vorhanden sind, ist nach den Untersuchungen von van Slyke wohl als

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1913, 1423.

sicher anzunehmen, war ja auch a priori zu erwarten. Das Blut ist teilweise als Transportmittel aufzufassen. Höchst wahrscheinlich ist es nun, daß in das Blut nicht nur freie Aminosäuren, sondern auch größere Komplexe verschleppt werden, und daß zur Zertrümmerung solcher, die ja wahrscheinlich fortwährend vorhanden sind, sich im Blute auch Fermente finden, deren Aufgabe es ist, diese zum Teil vielleicht schädlichen Komplexe in unschädlichere zu verwandeln. Diesem Gedankengang hat der eine von uns in der oben genannten Arbeit Ausdruck gegeben, und die Resultate, über die unten berichtet werden soll, scheinen in diesem Sinne zu sprechen.

In den klassischen Versuchen von Fischer und Abderhalden ist die Abhängigkeit der Fermentwirkung von der Konfiguration des als Substrat dienenden Eiweißes gezeigt worden. Viele neue Erfahrungen haben diese Versuche erweitert und den äußerst glücklich gewählten Vergleich Fischers von Ferment und Substrat als Schlüssel und Schloß illustriert. Wenn wir auch bisher nur eine verhältnismäßig geringe Zahl von Substanzen kennen, die wir als Bausteine der Proteine betrachten können, ist doch die Zahl der Kombinationen eine derartig gewaltige, daß es Millionen Schlüssel geben müßte, die zu den Millionen Schlössern paßten. Die Immunitätslehre hat in langjähriger, vielseitiger, wenn auch exakt nicht immer geklärter Weise zeigen können, daß die Seren der Tiere solche Schlüssel enthalten, die nur auf ein ganz speziell dazu gearbeitetes Schloß paßten. Daß zwischen den Antikörpern der Immunitätsforschung und den Fermenten innige Zusammenhänge bestehen, bezweifelt wohl heute niemand mehr. Es wird lediglich von der Verfeinerung der Methodik abhängen, diese feinen Differenzen mehr und mehr aufzudecken.

Die Resultate, die wir erhalten haben, sprechen nun durchaus für eine Spezifität des Serumfermentes eines Tieres für sein eigenes Eiweiß, oder, um uns vorsichtiger auszudrücken, gegenüber dem Eiweiß einiger seiner Organe. Wir haben in unseren Versuchen, bei denen wir nur auf die Gegenwart peptolytischer Fermente im Blutserum fahndeten, uns der hierfür allein in Betracht kommenden optischen Methode bedient, indem als Substrat Peptone dienten, die wir durch partielle Hydrolyse mit Schwefelsäure nach der an anderem Ort angegebenen Vor-

schrift aus den blutfrei gewaschenen Organen erhielten. Über die Versuchsanordnung an dieser Stelle zu sprechen, erübrigt sich wohl. Die Peptone reagierten stets etwas alkalisch. Ablesungen erfolgten im dreiteiligen Lippichschen Polarisationsapparat mit monochromatischem Licht. Kontrollen mit Peptonen allein sind nicht in die Tabellen aufgenommen; die entsprechenden Röhrchen zeigten nie Änderungen. Wie die nachstehenden Figuren ergeben, dienten uns Peptone aus Muskeln von Hund, Katze, Pferd, Fuchs, von Fuchsleber, von in toto hydro-

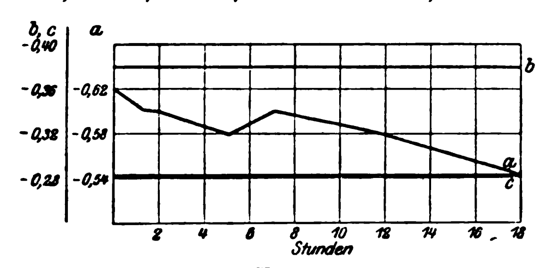


Fig. 1.

a: 0,5 ccm norm. Hundeserum.
1,0 „ Hundemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

b: 0,5 ccm norm. Hundeserum.
1,0 „ Katzenmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

c: 0,5 ccm norm. Hundeserum.
4,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

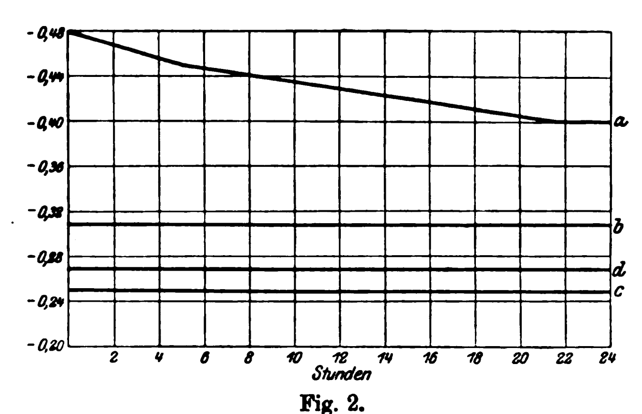


Fig. 2.

0,5 ccm Pferdeserum +

a: 1,0 ccm Pferdemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

b: 1,0 „ Katzenmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

c: 1,0 ccm Seidenpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

d: 4,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

lysierten Ratten und zum Vergleich Peptone aus körperfremden Eiweißarten, Seide und Gelatine, wobei letztere freilich nicht stets als körperfremd zu betrachten ist. Die Figuren 1 bis 6 zeigen wohl eindeutig, daß das Serum eines Tieres in allen Fällen sein

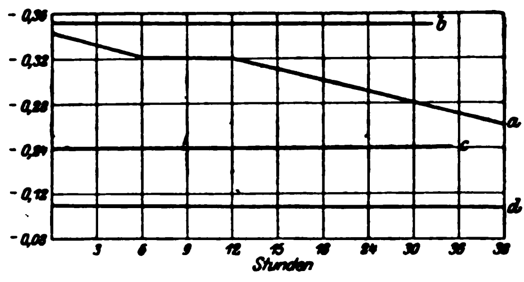


Fig. 3.

0,5 ccm norm. Menschenserum +

a: 0,5 ccm Menschenmuskelpepton.
3,5 „ Kochsalzlösung.

b: 0,5 „ Katzenmuskelpepton.
3,5 „ Kochsalzlösung.

c: 1,0 ccm Pferdemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

d: 4,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in $5\,^0/_0$ igen Lösungen.

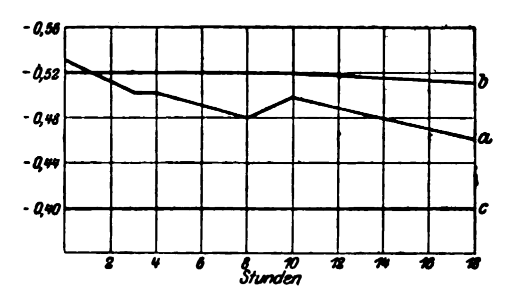


Fig. 4.

a: 1,0 ccm Katzenserum.
1,0 „ Katzenpepton.
6,0 „ Kochsalzlösung.

b: 0,5 ccm Katzenserum.
1,0 „ Hundemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

c: 1,0 ccm Katzenserum.
7,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in $5\,^0/_0$ igen Lösungen.

eigenes Organpepton abzubauen imstande war, wogegen Eiweißpepton der Organe anderer Tiere nicht abgebaut wurde. Eine einzige Ausnahme wurde hierbei konstatiert, und diese betrifft das Meerschweinchenserum, das im Gegensatz zu anderen Tierseren sowohl verschiedene der Organpeptone als auch Seidenpepton hydrolisierte. (Fig. 7.)

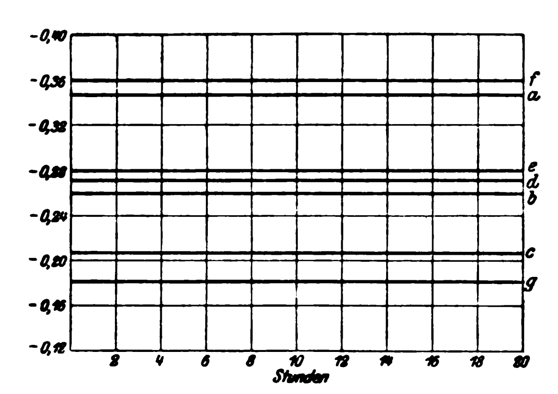


Fig. 5.

a: 0,5 ccm Hammelserum.
1,0 „ Hundemuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

b: 0,5 „ Hammelserum.
1,0 „ Katzenmuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

c: 0,5 „ Hammelserum.
1,0 „ Seidenpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

d: 0,5 ccm Hammelserum.
1,0 „ menschl. Harneiweißpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

e: 0,5 „ Hammelserum.
1,0 „ Gelatinepepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

f: 0,5 „ Hammelserum.
1,0 „ Pferdemuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

g: 0,5 ccm Hammelserum.
2,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in $5\,^0/_0$ igen Lösungen.

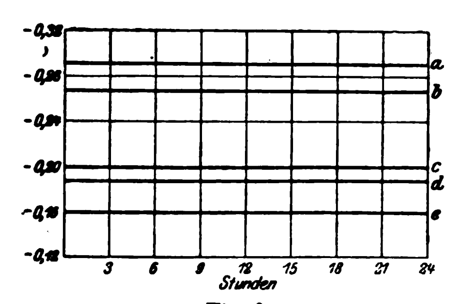


Fig. 6.

0,5 ccm Kaninchenserum +

a: 1,0 ccm Fuchsmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

b: 1,0 „ Pferdemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

c: 1,0 ccm Katzenmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

d: 1,0 „ Seidenpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

e: 4,0 ccm Kochsalzlösung.

Peptone in $5\,^0/_0$ igen Lösungen.

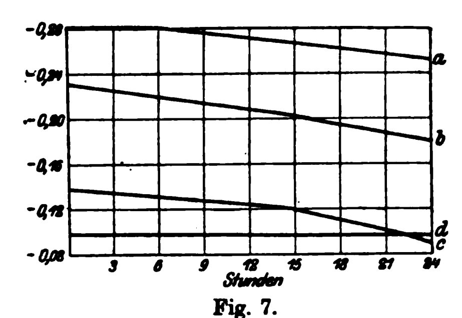


Fig. 7.

0,5 ccm Meerschweinchenserum +

a:	1,0 ccm	Katzenmuskelpepton.	*c*:	1,0 ccm	Seidenpepton.
	3,0 „	Kochsalzlösung.		3,0 „	Kochsalzlösung.
b:	1,0 „	Fuchsmuskelpepton.	*d*:	4,0 „	Kochsalzlösung.
	3,0 „	Kochsalzlösung.			

Peptone in 5%igen Lösungen.

Dieser Befund entspricht schon früheren Ergebnissen und läßt sich ohne weiteres nicht erklären. Man muß die Hilfshypothese machen, daß im Meerschweinchenserum nicht ein einziger auf sein eigenes Eiweiß eingestellter Schlüssel vorhanden ist, sondern eine Pluralität von Fermenten bzw. ein universelles Ferment, das verschiedene Peptone zu hydrolysieren vermag. In recht auffallender Parallele hierzu steht der von der Immunitätsforschung oft verwendete Reichtum des Meerschweinchenserums an „Komplement". Es wäre jedoch verfrüht, aus dieser Ähnlichkeit auf die Identität von Serumferment und Komplement zu schließen; hier müssen erst weitere Versuche Aufklärung bringen, ob, wie von einer Seite behauptet wird, das Serumferment identisch ist mit dem Amboceptor oder, wie von anderer Seite behauptet wird, mit dem Komplement oder, wie noch behauptet wird, mit keinem der beiden.

Schon in früheren Versuchen im Abderhaldenschen Institut war dem einen von uns wiederholt aufgefallen, daß man bei Verwendung von Gelatinepepton als Substrat bei weitem nicht so eindeutige Resultate erhielt, als wenn man z. B. Seidenpepton verwandte. Ganz unmotiviert wurde bisweilen ein scheinbarer Abbau von Gelatinepepton durch normales Serum gefunden, der zunächst auf Versuchsfehler zurückgeführt wurde. Hatten wir doch in vielen Versuchen gesehen, daß Serum vom unbehandelten Tier, z. B. Hund, die damals untersuchten Peptone nicht abbaute. Ganz etwas Ähnliches wurde jetzt von

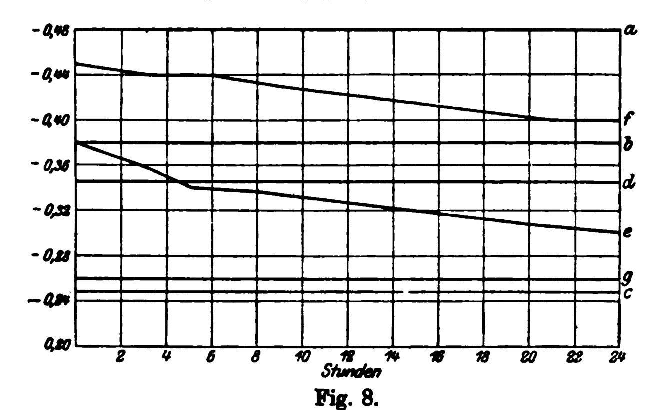


Fig. 8.

0,5 ccm Rinderserum +

a: 1,0 ccm Hundemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
b: 1,0 „ Katzenmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
c: 1,0 „ Seidenpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
d: 1,0 ccm menschl. Harneiweißpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
e: 1,0 „ Gelatinepepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
f: 1,0 „ Pferdemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
g: 4,0 ccm Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

uns beim Rinderserum gefunden. (Fig. 8.) Wir glauben jedoch, daß dieser Abbau durchaus gerechtfertigt ist: stammt doch die Gelatine des Handels zum größten Teil aus dem Bindegewebe der Rinder, und der hier beobachtete Abbau wäre also ein Abbau eines arteigenen Peptons. Ob der beobachtete ziemlich geringe Abbau des Pferdemuskelpeptons durch Artverwandtschaft bedingt ist, soll noch ausführlich untersucht werden.

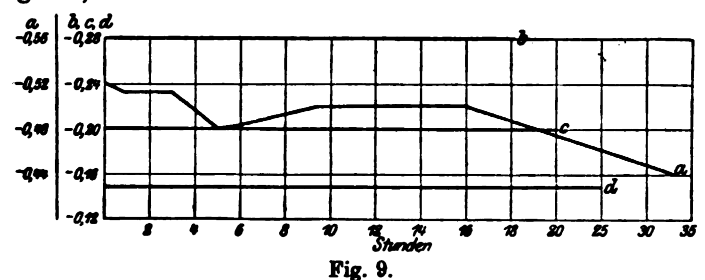


Fig. 9.

a: 0,5 ccm Fuchsserum.
1,0 „ Hundemuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.
b: 0,5 „ Fuchsserum.
1,0 „ Katzenmuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.
c: 0,5 ccm Fuchsserum.
1,0 „ Seidenpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.
d: 0,5 „ Fuchsserum.
2,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

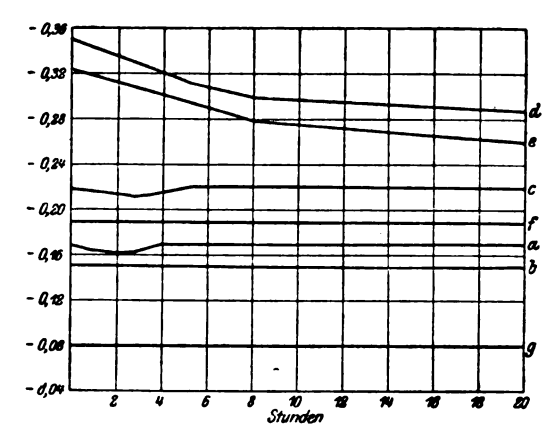


Fig. 10.

0,5 ccm Fuchsserum +

a: 0,5 ccm Gelatinepepton.
3,5 „ Kochsalzlösung.
b: 0,5 „ menschl. Harneiweiß-pepton.
3,5 „ Kochsalzlösung.
c: 0,5 „ Pferdemuskelpepton.
3,5 „ Kochsalzlösung.

d: 0,5 ccm Fuchsleberpepton.
1,5 „ Kochsalzlösung.
e: 0,5 „ Fuchsmuskelpepton.
1,5 „ Kochsalzlösung.
f: 0,5 „ Menschenmuskelpepton.
1,5 „ Kochsalzlösung.
g: 4,0 „ Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

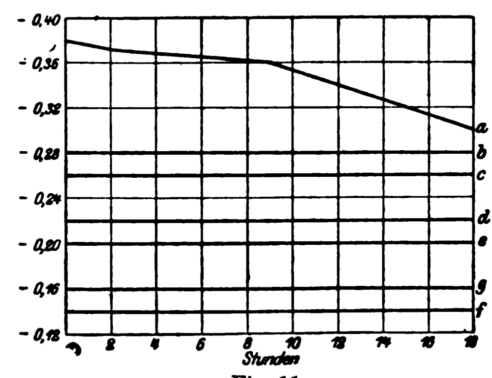


Fig. 11.

0,5 ccm Fuchsserum +

a: 1,0 ccm Hundemuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
b: 1,0 „ Katzenmuskelpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.
c: 1,0 „ Pferdemuskelpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.

d: 1,0 ccm menschl. Harneiweißpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.
e: 1,0 „ Gelatinepepton.
1,0 „ Kochsalzlösung.
f: 1,0 „ Seidenpepton.
3,0 „ Kochsalzlösung.

g: 4,0 ccm Kochsalzlösung.

Peptone in 5 %igen Lösungen.

Wir haben auch die Frage der Artverwandtschaft einer Prüfung unterzogen und haben das Serum von Füchsen einerseits auf Fuchsorganpepton, Hundemuskelpepton, andererseits auf Peptone aus Organen nicht artverwandter Tiere wirken lassen. Das Serum von Hunden prüften wir unter anderem auch gegen Pepton aus Fuchsorganen. (Fig. 9 bis 12.) Als Resultat ergab sich, daß die artverwandten Seren sich durchaus gleich verhalten; Hundeserum baut ebenso wie Hundepepton auch Fuchspepton

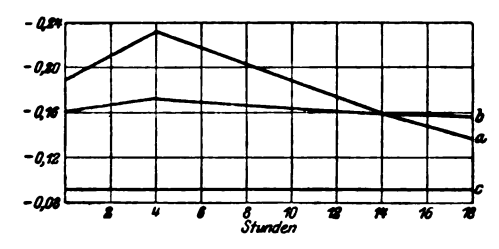


Fig. 12.
0,5 ccm Hundeserum +
a: 1,0 ccm Fuchsmuskelpepton. *b*: 1,0 ccm Rattenpepton.
1,0 „ Kochsalzlösung. 1,0 „ Kochsalzlösung.
c: 2,0 ccm Kochsalzlösung.
Peptone in 5 %igen Lösungen.

ab, Fuchsserum außer dem Pepton seiner eigenen Organe auch Pepton aus Hundemuskeln, dagegen kein Organpepton anderer Tiere. So dokumentiert also auch diese Methode die Verwandtschaft dieser beiden Tierarten, und sie erlaubt wohl den Schluß, daß das Eiweiß der Organe dieser beiden Arten, die von demselben Schlüssel aufgeschlossen werden, auch in der Zusammensetzung eine beträchtliche Ähnlichkeit aufweisen muß.

Nachweis und Bestimmung von Blei in organischem Material nebst einigen Bemerkungen über die Trennung von $PbSO_4$ und $CaSO_4$ durch Ammonacetat.

Von

Ernst Erlenmeyer.

(Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1913.)

Bleibestimmungen in organischem Material sind für den Kliniker wie Hygieniker von Wichtigkeit. Der Kliniker hat zuweilen kein anderes Mittel, die Ätiologie unklarer auf Bleivergiftung hindeutender Symptome festzustellen als den Nachweis des Metalles in den Exkreten des Erkrankten, während der Hygieniker zuweilen vor die Aufgabe gestellt wird, die Löslichkeit und Giftigkeit einer bleihaltigen Substanz durch das Tierexperiment zu ermitteln.

Ich habe mich in den letzten 3 Jahren eingehend mit dem Studium der chronischen Bleivergiftung[1]) beschäftigt, um den bis dahin unbekannten Mechanismus dieser Erkrankung klarzustellen. Ich war bei diesen Versuchen gezwungen, ganze Tiere bis zu 3 und mehr Kilogramm Gewicht, sowie ihre Exkrete aus vielmonatlichen Versuchen auf Blei zu verarbeiten. Nach zahlreichen Vorversuchen erzielte ich bei diesen Analysen eine Genauigkeit von 98 bis 99 $^0/_0$. Die hierbei angewandte Methodik sei im folgenden mitgeteilt.

Vorbereitung des organischen Materials.

Blei, das in den Organismus aufgenommen ist, wird in der Hauptsache durch Urin und Kot, in zu vernachlässigender Menge mit dem Schweiß ausgeschieden. Im Kote findet sich

---

[1]) Ernst Erlenmeyer, Der Mechanismus der chronischen Bleivergiftung nach experimentellen Studien. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **14**, 318, 1913.

außerdem, falls das Metall durch den Magendarmkanal aufgenommen wurde, meist auch etwas Blei, das nicht durch den Organismus selbst, sondern nur durch den Darm gewandert ist. Nur diese letzte Menge läßt sich, falls ihre chemische Natur dies erlaubt, direkt elektrolytisch abscheiden oder durch verdünnte Salpetersäure extrahieren. Alles übrige Blei ist organisch gebunden. Um es quantitativ zu bestimmen, muß deshalb erst die organische Substanz zerstört werden.

Diese Zerstörung geschieht am besten durch einfache Verbrennung.

Man kann die Zerstörung auch nach Fresenius-v. Babo[1]) mittels konz. HCl und $KClO_3$ vornehmen. Doch hat diese Methode den Nachteil, daß fettige Substanzen sehr schlecht zerstört werden, so daß sie z. B. zur Verarbeitung von Kot gänzlich ungeeignet ist, aber auch bei der Zerstörung von fettarmen Substanzen, wie Muskeln, Haut, inneren Organen bleiben fast stets kleine Mengen organischer Substanz zurück. Dadurch wird der weitere Gang der Analyse oft sehr erheblich gestört. Zudem wird die Menge des anorganischen Materials durch das Entstehen von KCl erheblich vermehrt, und man ist ferner gezwungen, mit heißen oder sehr verdünnten Lösungen zu arbeiten, da die Löslichkeit des $PbCl_2$ nach Abegg[2]) bei 15° 9,09 g pro Liter und bei 100° 33,4 g pro Liter beträgt.

Die Zerstörung geschieht deshalb am besten durch einfache Verbrennung, und zwar bei Mengen bis zu 150 g im Porzellantiegel, bei größeren Mengen im Muffelofen.

Im Porzellantiegel verbrennt man die gut zerkleinerte und einigermaßen lufttrockene Substanz in kleinen Portionen von 20 bis 30 g. Urin engt man vorher bis zu Sirupkonsistenz ein. Man benutzt kleinste, eben wirksame Flamme und geht erst zur vollen Flamme eines großen Teclubrenners über, wenn alle Substanz verkohlt ist und keine Dämpfe mehr entweichen. Am Schlusse, wenn die saubere Asche der gesamten Substanz im Tiegel zusammen ist, wird in demselben Tiegel die Trennungsreaktion ausgeführt.

Zu den Verbrennungen im Muffelofen benutzte ich einen Gas-

---

[1]) Fresenius-v. Babo, Liebigs Annal. d. Chem. 49, zit. nach W. Autenrieth, Auffindung der Gifte. 4. Aufl. Tübingen 1909.

[2]) Abegg, Handb. d. anorg. Chem. 1909.

muffelofen nach Wiesnegg, Muffelgröße: $18 \times 10^1/_2 \times 6^1/_2$ cm, und Porzellanschalen von Haldenwanger, Spandau, Größe: $12 \times 8 \times 3$ cm.

Quantitative Analyse.

Für jede Substanz, die zu einer Analyse gehört, nimmt man am besten eine frische Porzellanschale, in der am Schlusse die unlöslichen Teile der Asche nochmals geglüht und ein Silicataufschluß ausgeführt wird. Bei den hohen Temperaturen, bei denen gearbeitet wird, wirkt nämlich die Kieselsäure des Porzellans ganz erheblich als Säure und setzt sich mit Blei um. Folgender Versuch beweist dies.

Versuch 1.

1 ccm Bleiacetatlösung = 0,1842 $PbSO_4$ wurden in einem Verbrennungstiegel eingedampft, dann 2 Stunden, wie üblich, geglüht.

Durch Lösen in NHO_3 erhalten . .	0,1652 $PbSO_4$
Durch Silicataufschluß erhalten . .	0,0187 „
Summa	0,1839 $PbSO_4$

Es hatten sich also $10\,^0/_0$ des Bleies mit der Kieselsäure umgesetzt, bei einem anderen Kontrollversuch mit 500 g Fleisch, der $99\,^0/_0$ Genauigkeit ergab, sogar $90\,^0/_0$. Der Silicataufschluß ist also ein durchaus wichtiger Teil der Analyse.

Bei der Verbrennung im Muffelofen achte man besonders das erstemal auf langsames Erwärmen und langsames vorsichtiges Abkühlen, weil die Porzellantiegel gerade bei der ersten Benutzung leicht springen.

Da die organische Masse stark aufquillt, vor allem Urin, darf man auf einmal nicht mehr als ca. 100 g, von dem Urinsirup nicht mehr als 50 g einfüllen. Sowie diese Menge einigermaßen verkohlt ist, kühlt man ab und gibt eine neue Füllung in den Tiegel. Erst wenn die Kohle von mehreren Füllungen vorliegt, glüht man bei guter Rotglut 1 Stunde lang durch.

Man kann die eigentliche Verbrennung sehr beschleunigen durch Einleiten durch Sauerstoff. Man führt durch ein in die Schlußkachel gebohrtes Loch ein Tonrohr, etwa das eines Rosetiegels, ein und leitet aus einer Sauerstoffbombe dauernd Gas in den Verbrennungsraum. Die Geschwindigkeit des Gasstromes

reguliert man so, daß in einer vorgelegten und mit Schwefelsäure beschickten Waschflasche etwa 100 Gasblasen pro Minute aufsteigen. Auf diese Weise ist die Verbrennung in wenigen Minuten vollendet.

Verarbeitung der Asche.

Ist die ganze zu einer Analyse gehörige Substanz verbrannt, dann digeriert man die gut zerkleinerte Asche zusammen mit dem Verbrennungstiegel 24 Stunden lang auf dem Wasserbade in einer geräumigen Porzellankasserolle mit Sodalösung von stark alkalischer Reaktion (ca. 20%). Der Rückstand wird auf einer Nutsche abgesaugt und ebenso wie der Verbrennungstiegel mit 5%iger Sodalösung nachgewaschen. Auf diese Weise wird man fast alle Kieselsäure, die sich bei dem starken Glühen der Verbrennungstiegel in ganz erheblicher Menge löst, als Natriumsilicat los. Das Filtrat (I) ist bleifrei, wie ich mich mehrfach durch sorgfältigste Kontrolle überzeugt habe[1]). Der Rückstand (I) wird jetzt zusammen mit dem Verbrennungstiegel mit 5 n-HNO_3 10 Stunden lang auf dem Wasserbade digeriert, mit Wasser stark verdünnt und filtriert. Der Rückstand (II) enthält meist noch nicht ganz verbrannte Kohlenteile und Spuren von Blei als Sulfat und Silicat. Er wird später bei dem Silicataufschluß nochmals mit verarbeitet.

Das Filtrat (II) enthält meist die Hauptmenge des Bleies als Nitrat zusammen mit den Nitraten der übrigen Kationen mit Ausnahme der der Alkaligruppe, vor allem sind große Mengen von Calcium und aus dem Tiegelporzellan stammendes Aluminium in der Lösung. Diese Lösung wird mit der entsprechenden salpetersauren Lösung des Silicataufschlusses vereinigt und auf dem Wasserbade, soweit als möglich, eingeengt. Dann digeriert man 2 Stunden lang auf dem Wasserbade mit ca. 500 ccm Wasser unter häufigem Umrühren, um zu verhindern, daß gelöstes Blei durch feste Teilchen zurückgehalten wird. In dieselbe Lösung trägt man dann Ammoniak ein bis zu deutlich alkalischer Reaktion, säuert mit Eisessig wieder an und digeriert 2 Stunden auf dem Wasserbad. Dann wird

[1]) s. Löslichkeitstabelle S. 335.

durch eine Nutsche abgesaugt und sehr gründlich mit verdünnter Essigsäure (2 %ig) nachgewaschen. Der Niederschlag enthält alles Aluminium und Eisen als Hydroxyde, etwas Calcium und etwa noch vorhandene Kieselsäure. In die eingeengte und, wenn nötig, nochmals filtrierte schwach essigsaure Lösung trägt man jetzt pulverisiertes Ammonbichromat ein, so daß etwa eine 10 %ige Lösung entsteht. Man digeriert dieselbe 3 bis 4 Stunden auf dem Wasserbade und läßt 12 Stunden in der Kälte absitzen. Dann wird durch ein Faltenfilter filtriert und mit verdünnter Essigsäure das überflüssige Chrom einigermaßen ausgewaschen.

Der Niederschlag enthält jetzt das Pb als $PbCrO_4$. Um ganz sicher zu sein, daß die Substanz rein ist und um eine bequeme Wägungsform zu haben, wird jetzt das Blei ins Sulfat übergeführt. Zu diesem Zwecke bringt man das ganze Filtrat in konz. HNO_3. Der ganze Niederschlag geht dabei, wenn nötig unter leichtem Erwärmen, in Lösung und das Filter wird zum Teil zerstört. Zugleich findet eine Reduktion der Chromsäure zu Chrominitrat statt und alles Pb geht in $Pb(NO_3)_2$ über. Ist die Reduktion, wenn nötig auf Zusatz von einigen Tropfen Alkohol, eingetreten, wobei die orangegelbe Chromatfarbe in die grüne Chromifarbe umschlägt, so wird stark verdünnt, von den Filterresten abfiltriert und gut nachgewaschen. Die Lösung wird mit einigen Kubikzentimetern konz. H_2SO_4 versetzt, eingeengt und über der freien Flamme erwärmt, bis Schwefelsäuredämpfe auftauchen. Man verdünnt dann mit Wasser, filtriert nach mehrstündigem Stehen durch ein quantitatives Filter und wäscht den Niederschlag mit 4 %iger Schwefelsäure chromfrei. Das Filter wird dann getrocknet, im kleinen gewogenen Porzellantiegel verbrannt und mit HNO_3 und H_2SO_4 im Luftbad bis zur Gewichtskonstanz abgeraucht.

Mit dem Rückstand (II) wird der Silicataufschluß ausgeführt. Sind noch erhebliche Kohlenreste vorhanden, dann wird nochmals bis zur Erzielung einer sauberen Asche geglüht. Hier empfiehlt sich sehr das Verbrennen im Sauerstoffstrom (siehe oben). Die kohlenfreie Asche wird fein pulverisiert und mit der 10fachen Menge eines Natrium-Kaliumcarbonatgemisches (1:1) gründlich gemischt und im Muffelofen $^3/_4$ Stunden lang im

Schmelzfluß erhalten. Der ganze Tiegel wird dann 24 Stunden mit 5%iger Sodalösung in einer geräumigen Porzellankasserolle digeriert und der Tiegelinhalt mit einem Porzellanspatel möglichst herausgebracht. Dann wird wie oben verfahren. Also: Filtriert, Filtrat ist bleifrei, Rückstand mit Salpetersäure gelöst und mit obiger salpetersauren Lösung vereinigt.

Bleibt auch hier ein Rückstand, so kann er noch möglicherweise Spuren von Bleisulfat und Bleisilicat enthalten. Man verbrennt dann das Filter in einem kleinen Porzellantiegel und digeriert mehrere Stunden mit konz. Salpetersäure auf dem Wasserbade. Die Salpetersäure wird abgedampft und mit Schwefelsäure erwärmt, bis Schwefelsäuredämpfe entweichen. Dann wird abgekühlt, mit Wasser verdünnt und filtriert. Der Niederschlag wird mit konz. Ammonacetatlösung (Herstellung derselben siehe S. 338) mehrere Stunden in der Wärme behandelt, dann filtriert und in die auf ein Volumen von höchstens 100 ccm gebrachte Lösung H_2S eingeleitet. Falls ein Niederschlag entsteht, wird abfiltriert, mit $(NH_4)_2S$-haltigem Wasser nachgewaschen und in dem zur Wägung dienenden Tiegel mit verbrannt und wie dort behandelt.

Löslichkeitstabelle verschiedener Bleisalze.

Bleisalz	Lösungsmittel	Gelöst g Pb/l	Untersucher
$PbCl_2$	H_2O 15°	9,0900	Nach Abegg[1])
$PbCl_2$	H_2O 100°	33,4000	„ „
$PbSO_4$	H_2O	0,0315	„ „
$PbSO_4$	4% H_2SO_4	0,0044	Eigene Untersuchung
PbS	H_2S-haltiges H_2O [saure Reakt. (HCl)]	0,0040	„ „ s. S. 337
$PbCrO_4$	10% $(NH_4)_2Cr_2O_7$ + 5% CH_3COOH	0,0049	„ „
$PbCO_3$ (frisch gefällt)	10% Na_2CO_3	0,0291	„ „
$PbCO_3$ (im Silicataufschluß geglüht)	10% Na_2CO_3 24 St. Wasserbad	0,0000	„ „

Die Löslichkeit wurde in den eigenen Versuchen stets so bestimmt, daß der nicht gelöste Teil abfiltriert und gewogen wurde. Die Zahlen sind Mittelwerte aus zwei Bestimmungen.

[1]) Abegg, l. c.

Qualitative Analyse.

Der Gang der qualitativen Analyse ist wesentlich einfacher, da man nur den Teil der Gesamtanalyse zu berücksichtigen braucht, der die Hauptmenge des Bleies enthält.

Hat man im Porzellantiegel verbrannt, so genügt es nachzuweisen, daß eine Substanz vorliegt, die ein in H_2O unlösliches Sulfat bildet, das seinerseits in Ammonacetatlösung löslich ist, und daß in dieser Lösung H_2S eine Braunfärbung oder den bekannten schwarzen Niederschlag von PbS erzeugt.

Ausführung: Die saubere Asche wird in dem Verbrennungstiegel mit konz. HNO_3 2 Stunden aus dem Wasserbad digeriert, dann mit 1 bis 2 ccm konz. H_2SO_4 über freier Flamme erwärmt, bis die weißen Schwefelsäuredämpfe sich entwickeln. Jetzt wird mit H_2O verdünnt, filtriert und der Niederschlag mit 4%iger H_2SO_4 nachgewaschen, bis das Filtrat sicher Fe- und Cu-frei ist. Den Niederschlag digeriert man unter häufigem Umrühren 1 Stunde auf dem Wasserbad mit konz. Ammonacetatlösung. (Herstellung s. S. 338.) Fällt in dem klaren Filtrat dieser Lösung durch Einleiten von H_2S ein schwarzer Niederschlag aus oder tritt wenigstens Braunfärbung ein, so war Pb in der analysierten Substanz.

Hat man größere Mengen im Muffelofen zerstört, so verfährt man wie bei der quantitativen Analyse bis zur salpetersauren Lösung (Filtrat II). Dann engt man auf dem Wasserbad möglichst ein, nimmt unter kräftigem Rühren mit etwa 100 ccm H_2O auf, neutralisiert mit NH_3 und säuert mit HCl wieder an. In das schwach salzsaure Filtrat leitet man H_2S ein und entscheidet wie oben nach Braunfärbung oder Fällung eines schwarzen Niederschlages die Anwesenheit von Pb. Ist die Anwesenheit von Cu möglich, in menschlichen Exkrementen und Organen finden sich häufig Spuren von Cu, so führt man das Sulfid nochmals ins Sulfat über, wäscht dieses mit 4%iger H_2SO_4 Cu-frei und weist ganz wie oben das Pb mittels H_2S als PbS nach.

Hat man auf diese Weise eine Reaktion auf Pb nicht erhalten, so empfiehlt es sich, den unlöslichen Rückstand der ersten salpetersauren Lösung (Filtrat II) ganz wie oben im Silicataufschluß zu verarbeiten, da sich gelegentlich bis 90%

des Bleies zu Bleisilicat umsetzt und so der Lösung durch HNO_3 entgeht. Den Aufschluß behandelt man ganz wie bei der quantitativen Analyse mit Soda, den Rückstand mit Salpetersäure und die salpetersaure Lösung, wie angegeben, mit H_2S.

Trennung von $PbSO_4$ und $CaSO_4$ durch Ammonacetat.

Nach dem gewöhnlichen Analysengang geschieht die Trennung von Ca und Pb durch das Gruppenreagens. Pb wird durch H_2S in saurer Lösung gefällt, Ca bleibt in Lösung. Für die Verhältnisse von Bleianalysen in organischem Material ist diese Methode aber ungenau. Einmal muß man wegen der großen Menge des anorganischen Materials in ziemlich stark saurer Lösung und mit so großem Volumen arbeiten, daß die Löslichkeit des PbS als Fehler in Betracht kommt (s. Versuch 2). Außerdem entgeht häufig bei Anwesenheit größerer Mengen von SiO_2, wie sie bei diesen Analysen meist vorkommen, das Bleisulfid in kolloidaler Form der Filtration.

Versuch 2.

Wirkung von H_2S auf Bleiacetatlösungen verschiedener Konzentration in saurer und alkalischer Reaktion[1]).

Konzentration in 100 ccm	H_2S 8 Std. eingeleitet Reaktion				und Absitzen auf Wasserbad 1 Std. Reaktion			
	sauer		alkalisch		sauer		alkalisch	
	Färbg.	Fällg.	Färbg.	Fällg.	Färbg.	Fällg.	Färbg.	Fällg.
0,4 Pb : 10000	hell-grau	1. Trübg.	lebh. gelb	Trübg.	hell-grau	feinster Niederschl.	gelb	+
0,4 Pb : 100000	—	—	lebh. gelb	—	—	—	lebh. gelb	—

+ Niederschlag abgesetzt.

In 1000 ccm H_2S-haltigem Wasser sind also bei saurer Reaktion mindestens 4 mg PbS gelöst, während die 10fache Menge PbS eben einen feinsten Niederschlag hervorruft.

Dagegen schien mir die Trennung von Ca und Pb, wenn beide als Sulfat gefällt sind, mittels Ammonacetat aussichtsreich

[1]) Ernst Erlenmeyer, Blei- und Eisenbilanz bei experimenteller chronischer Bleivergiftung. Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1911.

zu sein. Da ich über diese Methode keine genaueren Angaben in der Literatur fand und da die Verhältnisse bei der Pb-Bestimmung in organischem Material derart sind, daß bei vielen Analysen dieser Art die Ca-Menge das 50 fache und noch mehr der Bleimenge ausmacht, habe ich folgende Versuche ausgeführt:

Herstellung der Ammonacetatlösung.

In 18 Tagen lösten sich in 100 ccm H_2O 400 g käuflichen reinen Ammonacetats bis auf eine kleine Menge. Nach weiteren 20 Tagen war auch dieser kleine Rest gelöst. Diese Lösung wird als gesättigte Lösung bezeichnet, ihr Volumen betrug 449 ccm.

Diese gesättigte Lösung wird unter Zusatz von konz. NH_3 bis zu deutlich alkalischer Reaktion (Kahler[1]) mit H_2O auf die Hälfte verdünnt. Sie dient als Stammlösung für die weiteren Versuche und wird im folgenden als konz. Ammonacetatlösung bezeichnet.

Versuch 3.
Löslichkeit von $CaSO_4$ in Ammonacetatlösungen verschiedener Konzentrationen.

Von der obigen konz. Ammonacetatlösung wurden Lösungen von 50 %, 10 % und 2 % hergestellt. In jede dieser Lösungen wurden je 10 g chemisch reinen Gipses eingetragen und bei 80° $2^1/_2$ Stunden sich selbst überlassen. Die Lösungen wurden dann bei Zimmertemperatur filtriert und aus dem Filtrat das gelöste $CaSO_4$ durch absoluten Alkohol ausgefällt.

Menge ccm	Konzentration der Ammonacetatlösung %	Gelöstes $CaSO_4$
100	50	1,044
100	10	0,444
100	2	0,241

Ammonacetat ist also ein, wenn auch schlechtes, Lösungsmittel für $CaSO_4$.

[1]) Kahler, s. Treadwell, Analyt. Chem. 1, 169.

Versuch 4.

Löslichkeit von $CaSO_4$ in Ammonacetatlösung + Alkohol.

Es wurden 4 Lösungen hergestellt von steigender Alkohol- und fallender Ammonacetatkonzentration. In jede Lösung wurden 10 g Gips eingetragen und 15 Stunden unter öfterem Umrühren bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde trocken filtriert und 50 ccm des Filtrats auf dem Wasserbade soweit als möglich eingeengt und, da hierbei zum Teil geringe Kohlemengen entstanden, im Luftbad mit HNO_3 und H_2SO_4 bis zur Gewichtskonstanz angesäuert.

Nr.	96 %iger Alkohol %	Konzentrierte Ammonacetatlösung %	Gelöstes $CaSO_4$ in 100 ccm dieser Mischung %
1	10	90	1,6948
2	30	70	> 1,0004
3	50	50	0,4262
4	70	30	0,1552

Versuch 5.

Dieselbe Versuchsreihe wurde dann in genau derselben Weise mit $PbSO_4$ ausgeführt.

Nr.	96 %iger Alkohol %	Konzentrierte Ammonacetatlösung %	Gelöstes $PbSO_4$ in 100 ccm dieser Mischung %
1	10	90	4,6244
2	30	70	3,6574
3	50	50	3,4556
4	70	30	2,4738

Nach diesen Versuchen ist Lösung Nr. 3 für die Trennung von $CaSO_4$ und $PbSO_4$ die zweckmäßigste. Sie enthält also gleiche Teile 96%igen Alkohols und der oben angegebenen konz. Ammonacetatlösung (halbgesättigt + NH_3 bis alkalische Reaktion).

Versuche über die Brauchbarkeit dieser Lösung ergaben, daß bei einem Verhältnis von Pb : Ca = 1 : 55 noch bis 90%

des Bleies wieder gewonnen wird, dabei muß aber sehr darauf geachtet werden, daß der Sulfatniederschlag fein verteilt ist und daß er mehrmals mit reichlichen Mengen des Alkoholacetatgemisches behandelt wird.

Für Analysenmengen von 50 g Asche und mehr ist diese Methode zu umständlich und die Ausbeute wechselnd. Man trennt dann besser durch die Chromatfällung, wie oben beschrieben. Bei kleineren Analysenmengen ist sie dagegen sehr brauchbar und vereinfacht den Analysengang ganz beträchtlich.

Zur Mechanik der biologischen Wirkung der Röntgenstrahlen.

Von

Eugen Petry.

(Aus dem Zentralröntgeninstitut des Grazer Landeskrankenhauses.)

(Eingegangen am 20. September 1913.)

Die Konstanz, mit der die einzelnen Organe in ganz charakteristisch verschiedener Intensität auf die gleiche absorbierte Menge von Röntgenstrahlen reagieren, läßt wohl nur die Deutung zu, daß der Grad der Empfindlichkeit für diese Strahlen ein für jedes Organ charakteristisches Merkmal darstellt. Diese Gesetzmäßigkeit findet eine wesentliche Vertiefung im histologischen Verhalten bestrahlter Organe: es nehmen auch die einzelnen Zellarten eines Organs an der Reaktion auf die Bestrahlung in ganz verschiedenem Ausmaße teil. Auch der Alterungszustand einer Zelle erwies sich als wesentlich für die Strahlenempfindlichkeit derselben.

Diese geradezu gesetzmäßigen Verschiedenheiten in der Reaktion auf Strahlen drängen uns zur Annahme, daß die Strahlenempfindlichkeit Beziehungen zum Bau und zum Entwicklungsstadium der betreffenden Zellart besitzen müsse. Dabei erscheint es mir von Bedeutung, daß sich die Empfindlichkeit gegen Röntgenstrahlen nicht schlechtweg mit erhöhter Vulnerabilität der Zellen gegen Schädigungen überhaupt (z. B. Zirkulationsstörungen) deckt. Man betrachte diesbezüglich die Verschiedenheit im Verhalten der Keimzellen einerseits, des Hirn- und Nierengewebes andererseits! Die Empfindlichkeit der Keimzellen für Röntgenlicht erscheint bei dieser Betrachtung als eine für diese eine Art der Schädigung spezifische Eigenschaft.

Worin ist aber nun diese Spezifität begründet? Zweifellos muß auch hier, wie überall dort, wo eine spezifische Wirksamkeit in Frage kommt, zwischen der einwirkenden Ursache und

der Konfiguration des Substrats jene Beziehung bestehen, für die Emil Fischer den klassischen Vergleich von Schlüssel und Schloß geprägt hat. In diesem Sinne liegt wohl die Annahme am nächsten, daß dem verschiedenen Verhalten der Zellen eine ungleiche Empfindlichkeit ihrer Bausteine für die Schädigung zugrunde liegt, und daß jene Zellen von den Strahlen am stärksten getroffen werden, die einen besonders lichtempfindlichen Körper in wesentlicher, für die Integrität der ganzen Zelle bedeutungsvoller Stellung besitzen, wie es etwa bei den Erythrocyten gegenüber der Einwirkung hämolytischer Substanzen der Fall ist.

Die chemische Zusammensetzung der Zelle könnte aber auch noch in anderer Weise für den Ausfall der Strahlenwirkung maßgebend sein. Die Entdeckungen, die wir einerseits der v. Tappeinerschen[1]) Schule, andererseits Carl Neuberg[2]) verdanken, haben uns die Erkenntnis von der katalytischen Fähigkeit gewisser Stoffe vermittelt, die imstande sind, dem Sonnenlichte eine chemische Wirksamkeit zu verleihen. Derartige photodynamische Vorgänge müssen beim Zustandekommen der Lichtempfindlichkeit der Zellen in Berücksichtigung gezogen werden. Die dem Forschungsgebiete Tappeiners entsprechenden fluorescierenden Farbstoffe dürften dabei für die Erklärung der Röntgenempfindlichkeit allerdings nicht in Frage kommen, da bereits durch Tappeiner selbst ihre Unfähigkeit, Röntgenstrahlen zu katalysieren, erwiesen wurde. Um so mehr muß sich aber unsere Aufmerksamkeit der von Neuberg erschlossenen Gruppe von Lichtkatalysatoren zuwenden, den Metallverbindungen, für die derartige Untersuchungen noch ausstehen. Ich habe mich der Aufgabe, Metallsalzlösungen auf ihre sensibilisierende Fähigkeiten gegenüber X-Strahlen zu prüfen, um so eher entschlossen, als zwischen manchen Metallsalzen und den Röntgenstrahlen gewisse physikalische Beziehungen bestehen, die immerhin an v. Tappeiners Sensibilisatoren erinnern: einzelne derselben (Zn-Sulfid, wolframsaures Ca, Uransalze) werden — allerdings nur im krystallisierten Zustande — von Röntgenstrahlen zur Fluorescenz erregt. Zudem sind ver-

[1]) Siehe in: Tappeiner und Jodlbauer, Die sensibilisierende Wirkung fluoresciender Substanzen. Leipzig 1907.

[2]) C. Neuberg, Chemische Umwandlungen durch Strahlenarten. Diese Zeitschr. 1908, 1909, 1910, 1911.

schiedene Metallsalze konstante Bestandteile der tierischen Zellen, und zudem in den einzelnen Zellarten in verschiedener Verteilung vorhanden. Aus diesem Grunde hatte bereits Neuberg in einer während der Vollendung dieser Untersuchung erschienenen Schrift[1]) diese von ihm entdeckten Katalysatoren für das Zustandekommen ungleicher Empfindlichkeit verschiedener Zellen für aktinisches Licht in Betracht gezogen.

In weiterer Verfolgung meiner Fragestellung erschien es mir aber auch möglich, die Beteiligung von Katalysatoren an der Röntgenempfindlichkeit gewisser Zellen einer direkten experimentellen Prüfung zu unterziehen. Beruhte dieselbe nur auf der Anwesenheit von photodynamischen Stoffen in den empfindlichen Zellen, so mußten sich solche bei einem Versuch, Extrakte der betreffenden Organe auf unempfindliche Testobjekte gleichzeitig mit Applikation einer ausgiebigen Strahlendosis einwirken zu lassen, verraten.

I. Versuche mit Metallsalzen.

Bei der Entscheidung der Frage, ob gewissen Metallsalzen eine röntgen-photodynamische Wirksamkeit zukomme, handelte es sich um eine Übertragung der von der Tappeiner-Schule für Eosin und aktinisches Licht durchgeführten Untersuchungen auf Metallsalze und X-Strahlen. Es war also am nächstliegendsten, zunächst auch in der Technik den von Tappeiner gewählten Versuchsanordnungen zu folgen.

Es erschien mir daher am zweckmäßigsten, zunächst Amöben als Testobjekt heranzuziehen.

Die Wahl dieses Objekts mag vielleicht befremdend erscheinen, wenn man bedenkt, welch langer Inkubationszeit Röntgenschädigungen z. B. der Haut bedürfen, während andererseits eine Amöbenkultur mit einer toxisch wirksamen Metallösung nur einen geringen Bruchteil dieser Zeit beobachtet werden konnte. Demgegenüber muß darauf verwiesen werden, daß neuere Versuche von E. Fränkel und W. Budde[2]) aus Krauses Polyklinik zeigen, daß für lichtempfindlichere Zellen ein Zeitraum von 1 Stunde zur Entfaltung der Wirkung genügt.

Ein zweites Bedenken mußte jedoch erst auf experimentellem Wege beseitigt werden; ich mußte in Vorversuchen prüfen,

[1]) C. Neuberg, Über die Beziehungen des Lebens zum Licht. Monogr. Berlin 1913.

[2]) E. Fränkel u. W. Budde, Histologische usw. Untersuchungen bei röntgenbestrahlten Meerschweinchen. Fortschritte Röntgenstrahlen XX, 355.

ob die von mir benutzten Amöben des Heuinfuses nicht bereits ohne Zusatz für Röntgenlicht empfindlich seien.

Versuch 1[1]).

Viertägige Kultur wird in einem Glastrog aus einer Distanz von 13 cm 90 Minuten lang (mit vielen Unterbrechungen behufs Röhrenwechsel) bei 2 M.-A. bestrahlt. Die Härte der Röhren betrug 5 bis 8 Walter. Berechnete Dosis ca. 14 Erythemdosen.

Noch 10 Stunden nach der Bestrahlung keine Spur von Störung an der Beweglichkeit der Tiere.

Die verwendeten Kulturen erwiesen sich also als hinlänglich resistent gegen Röntgenlichtwirkung, um zu solchen Versuchen herangezogen zu werden[2]).

Es mußten also nunmehr der v. Tappeinerschen Versuchsanordnung entsprechend für verschiedene Konzentrationen der zu prüfenden Metallsalze die amöbentötenden Dosen ermittelt werden, um sodann festzustellen, ob eine ausgiebige Strahlenmenge auf die Höhe dieser Dosis einen Einfluß auszuüben imstande ist.

Die Durchführung der Versuche gestaltete sich im einzelnen folgendermaßen:

Zur Verwendung kamen Amöbenkulturen, die durch Digestion eines Heuinfuses bei Zimmertemperatur in hohen 2-Liter-Gefäßen erhalten waren. Die Oberflächenschicht wurde mit einem Spatel abgehoben und in Wasser suspendiert. Die Versuchsflüssigkeit befand sich in der Höhlung eines hohlgeschliffenen Objektträgers und wurde mittels einer Öse mit einer Partie der Kultur beschickt. Von Zeit zu Zeit fand die mikroskopische Untersuchung statt, in der Zwischenzeit befanden sich die Proben im Dunkeln und waren durch Überstülpung eines Glaströgchens vor Verdunstung geschützt.

Es wurden nun von einer innerhalb weniger Stunden tödlich wirkenden Verdünnung des zu prüfenden Metallsalzes zwei gleiche Proben zur selben Zeit angelegt, deren eine mit Röntgenlicht bestrahlt wurde, während die andere unbelichtet blieb.

Die Bestrahlungen erfolgten aus verschiedenen Entfernungen (zumeist 15 bis 20 cm Fokalabstand). Die Härte der Röhren wurde mittels Walters Härtemesser ermittelt und mittels des Milliamperemeters während des Verlaufs der Bestrahlung kontrolliert.

Die mitgeteilten Versuchsbeschreibungen verzeichnen die Zahl der M.-A.-Minuten, die Röhrenhärte[3]) und die Distanz, sowie die aus diesen

---

[1]) Bez. Technik s. u.

[2]) Siehe auch: Tappeiner-Jodlbauer 1, 62.

[3]) Bei den in den 8 Tabellen wiedergegebenen Versuchen betrug die Härte 5 B.-W.

Daten sich ergebenden Strahlendosen, ausgedrückt in Erythemdosen, die nach der Walterschen Tabelle (ohne Benutzung eines Dosimeters) berechnet wurden. Die Bestrahlungen fanden zumeist bei 2 M.-A. statt.

Die verabfolgten Dosen waren — mit Ausnahme des Versuchs 1 — nicht extreme; gleichwohl beträgt die kleinste Dosis 2 Erythemdosen, würde also dem 5fachen Werte der Strahlenmenge entsprechen, die zur kompletten Sterilisierung eines Kaninchenbocks (Lindrum[1]) erforderlich ist.

Die verwendeten Röhren (Bauer, Müller, Radiologie, Gundelach) wurden ausschließlich am großen Siemens-Halske-Hochspannungsgleichrichter des Instituts betrieben, und es wurden zu einem Versuche schonungshalber zumeist mehrere Röhren hintereinander verwendet.

Die Uranversuche wurden im Dunkel ausgeführt, die meisten Versuche mit Zwischenschaltung eines 6fachen schwarzen Plattenpapiers in den Strahlengang, das während der Versuche ausgewechselt wurde, und, wie Versuche mit berußten Thermometern zeigten, genügte, um die für die Amöben sehr schädliche strahlende Wärme auszuschließen.

Herangezogen wurden nur jene Metalle, deren Verbindungen durch Röntgenstrahlen zur Fluorescenz erregt werden: Zink, Wolfram und Uran. Von Zink versuchte ich auch eine Lösung kolloidalen Sulfids, da krystallinisches Zinksulfid fluoresciert. Uran verdient besonderes Interesse, da seine Verbindungen auch aktinisches Licht katalysieren (Neuberg).

Ich lasse nun in den Tabellen die Versuchsresultate folgen.

Tabelle I.

Versuch 2 (Urannitrat).

Konzentration	Unbestrahlt	Bestrahlt
1 : 20 000	Tot in 15 Min.	
1 : 40 000		Dosis: 24 M.-A.-M. 15 cm (2 E.-D.).
	Nach 18 Min. einzelne Tote.	Nach 16 Min. bereits einzelne tot.
	Nach 40 Min. viele Tote.	Nach 40 Min. alle tot.
	Nach 1 Std. 18 Min. noch zwei Lebende.	
1 : 200 000		Dosis: 40 M.-A.-M. 15 cm (ca. 4 E.-D.).
	Nach 16 Std. noch keine tote Zelle.	Nach 16 Std. keine tote Zelle.
	Nach 24 Std. einzelne tote Zellen.	Nach 24 Std. keine tote Zelle.
	Nach 26 Std. alle Zellen tot.	Nach 26 Std. zwei Lebende, alle anderen tot.

[1]) W. Lindrum, Die Beziehungen zwischen Oberflächen- und Tiefendeckung harter Röntgenstrahlen. Strahlentherapie II, 293.

Tabelle II.

Versuch 3 (Natr. wolframic.).

Konzentration	Unbestrahlt	Bestrahlt
1 : 200	Nach 20 Min. lebend. Nach 30 Min. sämtliche tot.	—
1 : 400	Nach 1/4 Std. alle am Leben, träge. Nach 1/2 Std. einzelne Tote. Nach 3/4 Std. weitere Tote. Nach 1 1/2 Std. zwei lebend.	Dosis: 24 M.-A.-M. bei 15 cm (ca. 2,5 E.-D.). Nach 1/4 Std. alle lebend. Nach 1/2 Std. 6% Tote. Nach 3/4 Std. 50% Tote. Nach 1 1/4 Std. eine lebende.
1 : 600	Nach 1 Std. alle lebend. Nach 1 1/2 Std. einzelne Tote. Nach 2 Std. 50% tot. Nach 4 Std. noch einzelne lebend.	Dosis: 24 M.-A.-M. bei 15 cm (2,5 E.-D.). Nach 1 Std. alle lebend. Nach 1 1/2 Std. einzelne Tote. Nach 2 Std. 50% tot. Nach 4 Std. einzelne lebend (ca. 1/4).

Tabelle III.

Versuch 4 (Zinksulfat).

Konzentration	Unbestrahlt	Bestrahlt
1 : 2000	Tot in 5 Min.	
1 : 10 000	Nach 15 Min. viele Tote. Nach 20 Min einzelne lebend. Nach 30 Min. drei lebende Zellen. Nach 45 Min. eine lebende Zelle.	Dosis: 30 M.-A.-M. bei 15 cm (3 E.-D.). Ca. die Hälfte tot. Einzelne am Leben (rollend). Eine lebende Zelle. Alle tot.
1 : 20 000	Nach 30 Min. alle lebend. Nach 45 Min. vereinzelte Tote. Nach 90 Min. die Mehrzahl tot. Nach 3 Std. eine lebende Zelle.	Dosis: 38 M.-A.-M. bei 15 cm (über 3,5 E.-D.). Alle lebend. Vereinzelte Tote. Die Mehrzahl tot. Eine lebende Zelle.

Versuch 5.

(Kolloidales Zinksulfid.)

Kolloidales ZnS wird in destilliertem Wasser in der Wärme gelöst, darin eine Kultur suspendiert. Eine Probe wird bestrahlt, eine Kontrollprobe verbleibt unbehandelt.

Dosis: 30 M.-A.-Sek., Dist. 12 cm, 5 B.-W. (gegen 4 E.-D.).

Beide Proben 24 Stunden vollkommen frisch.

Versuch 6.

In der Wärme gesättigte Lösung von kolloidalem Zinksulfid wird mit Amöbenkultur versetzt. Haupt- und Kontrollprobe.

Dosis: 24 M.-A.-Min., 5 B.-W., Dist. 15 cm (2,5 E.-D.).

Beide Proben sind 72 Stunden danach noch vollkommen frisch.

Überblicken wir diese Versuchsreihe, so können wir bei den mit Wolfram und Zink angestellten Versuchen überhaupt keinen Unterschied feststellen, bei den beiden Uranversuchen hingegen kleine Differenzen, die nach meinen Erfahrungen innerhalb der bei gleichzeitig angestellten Kontrollproben vorkommenden Fehlergrenze fallen (s. darüber auch Tappeiner, Bd. 1, S. 4) und die überdies in beiden Versuchen nicht gleichsinnig lauten.

Auf keinen Fall kann man aus diesen Protokollen die Überzeugung gewinnen, daß die verwandten Strahlendosen die Giftigkeit der Metallsalze in einem mit der Eosinwirkung vergleichbaren Ausmaße erhöht haben.

Im Anschlusse daran habe ich Versuche mit Labpräparaten angestellt, bei denen ich analog den Invertinversuchen v. Tappeiners feststellte, ob Röntgenbestrahlung an der milchkoagulierenden Kraft einer mit dem zu prüfenden Metallsalz versetzten Lablösung etwas ändert.

Versuch 7.

4%ige Pegninlösung, welche die doppelte Milchmenge in 15 resp. 15 Sek. dick legt (40° Wasserbad, fortwährendes Schütteln der Probe), wird mit 1%iger $ZnSO_4$-Lösung versetzt (10:35), ein Teil der Mischung sofort, ein anderer nach ¼ stündigem Stehen, ein dritter nach mittlerweile erfolgter Bestrahlung untersucht. Die Gerinnungszeiten betrugen für die

sofort untersuchte Probe 25 Sek., für die nichtbestrahlte Kontrolle 25 und 25 Sek., für die bestrahlte Probe 25 und 27 Sek.

Die Strahlendosis betrug 56 M.-A.-Min. bei 12 cm und 3 B.-W. (3,7 E.-D.).

Versuch 8.

Fritzscher Labextrakt wird zu gleichen Teilen mit einer 1 %igen Urannitratlösung vermischt. Die Mischung legt das doppelte Milchvolumen in 6 resp. 6 Sek. dick.

Eine Probe der Mischung wird mit 24 M.-A.-Min. aus 12 cm Entfernung bestrahlt (2,5 E.-D.). Gerinnungszeit nach der Bestrahlung 6 resp. 6 Sek.

Beide Versuche haben keinerlei Beeinflussung der Wirksamkeit des Enzyms durch die Bestrahlung wahrnehmen lassen.

Man wird somit in den mit Metallen angestellten Versuchen keinen Anhaltspunkt dafür finden können, daß den verwendeten (auf Röntgenlicht im krystallinischen Zustande fluorescierenden) Metallen in Lösung eine photodynamische Wirksamkeit gegenüber Amöben oder Fermenten zukomme.

II. Versuche mit röntgenempfindlichen Organen.

Ich wandte mich nunmehr dem zweiten Teil meiner Fragestellung zu, der Entscheidung, ob die für Röntgenstrahlen hochempfindlichen Organe Stoffe enthalten, die als Lichtkatalysatoren für die X-Strahlen wirksam sind.

Als solche Organe wählte ich Hoden und Lymphdrüsen. Dieselben gelangten zur Untersuchung in der Form frisch hergestellter oder autodigerierter Extrakte.

Die Technik der Versuche lehnte sich zunächst an die der eben beschriebenen Versuchsreihe an; es wurde also das Verhalten dieser Extrakte gegen Amöben und gegen Labferment unter Einwirkung der Röntgenstrahlen untersucht.

Die Amöbenversuche konnten mit Rücksicht auf sekundäre Fäulnisvorgänge nicht in der gleichen Anordnung durchgeführt und auf eine mehrstündige Beobachtungsdauer ausgedehnt werden, sondern ich beschränkte mich einfach darauf, festzustellen, ob die Amöben im Laufe einer zweistündigen Beobachtungsdauer nach der Bestrahlung irgendeine Störung in ihrer Beweglichlichkeit aufweisen.

Versuch 9.

Ein frisch vom Schlachthause bezogener Stierhoden (Transportzeit ca. $^1/_2$ Stunde) wird eröffnet, vom vorquellenden Brei ca. 3 ccm mit Sand verrieben und in 25 ccm Wasser verbracht, durchgeschüttelt und von diesem Extrakt 2 ccm zum Versuche verwendet; es wird ein Tropfen frische Amöbenkultur eingebracht und die Probe bestrahlt.

Dosis: 80 M.-A.-Min. bei 20 cm Entfernung und verschiedener Härte der einzelnen verwendeten Röhren (Walter 5 bis 7, ca. 4 Erythemdosen).

Das Präparat zeigte während einer zweistündigen Beobachtungsdauer keine Spur von Einschränkung der freien Beweglichkeit der Tiere.

Versuch 10.

Derselbe Hodenbrei wird unverdünnt mit Amöbensuspension vermischt und bestrahlt.

Strahlendosis: 30 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz (6 f. schwarzem Papier als Filter) und 4 Benoist-Walter (ca. 3 Erythemdosen).

Resultat vollkommen negativ.

Die notwendige Beschränkung der Versuchsdauer auf einen kurzen Zeitraum beeinträchtigt die Beweiskraft dieser Versuche wesentlich, denn es ist nicht auszuschließen, daß sich bei länger dauernder Beobachtung doch Störungen an den bestrahlten Amöben eingestellt hätten. Immerhin erscheint das vollkommen negative Resultat doch bemerkenswert, wenn man erwägt, daß in Versuch 9 die zehnfache Strahlenmenge appliziert wurde, die hinreicht, um in Keimzellen schwere Degenerationen zu bewirken[1]), und wenn man erwägt, wie rasch Amöben bei Gegenwart einer sensibilisierenden Substanz auf aktinisches Licht reagieren (Jodlbauer und Tappeiner).

Größere Beweiskraft kommt nachfolgendem Labversuche zu, der mit einem 4 Wochen lang bei Zimmertemperatur autolysiertem (Toluol) Hodenextrakt (1 Stierhode auf 100 Wasser) angestellt ist, wodurch auch eine vollkommene Aufschließung

---

[1]) Nach E. Fränkel und W. Budde genügen 3,5 X zur Sterilisierung eines Kaninchenbocks.

des vielleicht der Extraktion nicht allzu leicht zugänglichen Spermatozoeninhalts gewährleistet ist.

Versuch 11.

30 ccm 4 %ige Pegninlösung, von der 5 ccm 10 ccm Milch (Vorwärmung, fortwährendes Schütteln im Wasserbad, Stoppuhr) in 15 Sek. zur Gerinnung bringen, werden mit 5 ccm Hodenextrakt (s. o.) vermischt, die Probe geteilt, ein Teil bestrahlt, der andere die gleiche Zeit stehen belassen, Dosis 40 M.-A.-M. bei 12 cm und 3 Benoist-Walter (2,6 E.-D.). Die bestrahlte Probe legt Milch (5:10) in 12 Sek. resp. 13 Sek. dick, die unbestrahlte in 12 Sek. resp. 12 Sek.

Aus mehrfachen Gründen erschien es mir wünschenswert, diese Versuchsreihe durch Heranziehung eines weiteren Testobjekts, der Erythrocyten, zu vervollständigen. Dieses bereits von H. Pfeiffer[1]) in die Technik photodynamischer Versuche eingeführte Objekt kam hauptsächlich wegen seiner großen Vulnerabilität und der Raschheit, mit der es auf seine Integrität störende Eingriffe reagiert, in Betracht, zudem konnte durch Verwendung des gleichen Versuchstiers das Experiment an Gleichartigkeit der in Testobjekt und Katalysator gegebenen Bedingungen gewinnen.

Die Versuche wurden an Kaninchen derart ausgeführt, daß die Tiere getötet und ihnen sofort aus dem Herzen Blut entnommen wurde, das defibriniert wurde. Andererseits wurden die Hoden resp. Lymphdrüsen und Milz derselben Tiere mit Glassand verrieben und mit 0,9 % NaCl infundiert und längere Zeit kräftig geschüttelt, von dem die ungelösten Gewebspartien zurückhaltenden Sande abgegossen, und nun stets im Verhältnis 1:9 Blut des Versuchstieres zugegossen.

Als Kontrolle diente eine gleiche Verdünnung von Blut mit 0,9 %iger NaCl-Lösung. 30 ccm beider Lösungen wurden nun in flachen prismatischen Glaströgen (11 × 6 × 2 cm), die mit der Langseite aneinander gestellt waren, der Röntgenlichtwirkung ausgesetzt. Die Röhre stand dabei so, daß die Trennungsfläche beider Tröge im ersten Hauptschnitt lag.

Nach der Bestrahlung wurden die Lösungen in hohen zylindrischen Gefäßen der spontanen Sedimentierung überlassen und nach mehreren Stunden untersucht.

---

[1]) H. Pfeiffer, Über die Wirkung des Lichts auf Eosinblutgemische. Wiener klin. Wochenschr. 1905, Nr. 9.

Versuch 12.

Mittelgroßer Hase. Morphin. Verwendet: Mesenterialdrüsen. Gewicht 3,5. Volumen des Extraktes 70 ccm. Strahlendosis: 32 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz. Röhre 3 Benoist-Walter (2 Erythemdosen).

Resultat: Keine der beiden Dosen zeigt Hämolyse; die über dem Sediment stehende Flüssigkeit in der bestrahlten und nicht bestrahlten Probe von gleicher gelblich opalescenter Färbung.

Versuch 13.

Mittelgroßer Hase. Genickschlag. Verwendet: Hoden und Nebenhoden (7,5 g). Volumen 70 ccm. Strahlendosis: 105 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz. Verwendung mehrerer Röhren mit verschiedener Härte (8 Erythemdosen).

Resultat ebenso negativ wie im Versuch 12.

Versuch 14.

Mittelgroßer Hase. Genickschlag. Verwendet: Mesenterialdrüsen und Milz (5,5 g). Strahlendosis: 100 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz und 3 Benoist-Walter (6,4 Erythemdosen).

Resultat: Keine Spur von Hämolyse.

Versuch 15.

Kleineres Kaninchen. Urethan. Verwendet: Milz und Mesenterialdrüsen (5 g). Volumen 100 ccm. Strahlendosis: 100 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz und 3 Benoist Walter (6,4 Erythemdosen).

Resultat: Keine Spur von Hämolyse.

Versuch 16.

Mittelgroßer Hase. Genickschlag. Verwendet: beide Hoden. Strahlendosis: 105 M.-A.-Min. bei 12 cm Distanz und 3 Benoist-Walter (6,7 Erythemdosen).

Resultat: Keine Spur von Hämolyse.

Das übereinstimmende Ergebnis dieser in verschiedenen Variationen ausgeführten Versuche zeigt, daß es unter den angegebenen Versuchsbedingungen nicht gelingt, mit Extrakten röntgenempfindlicher Organe an unempfindlichen Testobjekten

röntgenphotodynamische Wirkungen auszulösen. Die beiden hier mitgeteilten Versuchsreihen haben somit keine Bestätigung dafür erbracht, daß die Ursache der Empfindlichkeit bestimmter Organe für Röntgenlicht im Vorhandensein von Stoffen gelegen sei, die sich den X-Strahlen gegenüber ebenso verhalten, wie Eosin dem aktinischen Lichte gegenüber. Wollte man trotzdem photodynamischen Vorgängen eine Bedeutung für das Zustandekommen der Röntgenempfindlichkeit beimessen, so müßte man annehmen, daß diese Substanzen entweder mit spezifischer Wirksamkeit begabt oder so labil sind, daß sie bei Herstellung eines Extrakts zugrunde gehen. Beide Annahmen finden in unseren bisherigen Kenntnissen über photodynamische Vorgänge gar keine Stütze und wir mußten diese hypothetischen Röntgensensibilisatoren als ganz aus der Reihe der bekannten photodynamisch wirksamen Substanzen fallen lassen.

Demgegenüber ist es weitaus ungezwungener, für die Ursache des differenten Verhaltens verschiedener Gewebe gegen Röntgenstrahlen von vornherein andere Momente in Betracht zu ziehen.

Erwiderung zu der Mitteilung von Prof. E. Salkowski „Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn“[1])

von

H. Thar.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 28. September 1913.)

Im Schlußsatz unserer Arbeit „Zur Frage nach der chemischen Zusammensetzung des nach dem Zinkverfahren hergestellten sog. ‚kolloidalen Stickstoffs‘ aus normalem Menschenharn“[2]) schrieben wir:

„Indem wir die Frage nach der Existenz einer kolloidalen Stickstoffverbindung im normalen Menschenharn offen lassen, können wir auf Grund unserer Untersuchungen sagen, daß der Stickstoff des durch Zinksulfat aus normalem Menschenharn erzeugten Niederschlags aus Harnsäure und Purinbasen besteht, die Spuren von Harnstoff, Ammoniak und den übrigen Harnbestandteilen enthalten.“

Darauf schreibt Prof. Dr. E. Salkowski: „Es ist mir unverständlich, wie die russischen Autoren dazu gelangen, diesen gesperrt gedruckten und mit einer gewissen Emphase vorgetragenen Schlußsatz als Resultat ihrer Untersuchungen zu bezeichnen, wodurch der Schein erweckt wird, als ob ich diese Bestandteile des Zinkniederschlags übersehen hätte.“ „Das ist eine vollständige — ich will einmal milde sagen — Verkennung der Sachlage“, fährt Prof. Dr. Salkowski fort und gibt zu, daß wir Kojo[3]) zitieren, spricht jedoch nichts darüber, daß auch Kashiwabara von uns zitiert wurde[4]). Ein weiterer Satz lautet: „Die Fällbarkeit der Purinbasen durch Zinksalze und den Gehalt des Zinkniederschlags aus Harn an diesen habe ich auch schon kurz publiziert.“

Trotzdem wir absolut keine Priorität beanspruchten noch beanspruchen wollen, halte ich es doch für meine Pflicht, die Sachlage kurz zu schildern:

---

[1]) Diese Zeitschr. 55, 254, 1913.

[2]) Ebenda 52, 435, 1913.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 432.

[4]) l. c. S. 436.

Im Jahre 1910 wurde von Prof. Dr. E. Salkowski und K. Kojo[1]) das Zinkverfahren zur Bestimmung des sog. „kolloidalen Stickstoffs" aus Harn vorgeschlagen und nichts über die Anwesenheit der Harnsäure und der Purinbasen im Zinkniederschlage mitgeteilt. Nach ungefähr $7^{1}/_{2}$ Monaten erschien (August 1911) die von uns zitierte Arbeit von Kojo. Im April 1913 erschien die auch von uns zitierte Arbeit von Kashiwabara, aus der hervorgeht, daß ca. $54^{0}/_{0}$ des Stickstoffs im Zinkniederschlage auf die Harnsäure kommen und ca. $46^{0}/_{0}$ auf anderweitige, unbekannte organische Substanz[2]).

So stand die Sachlage damals, d. h. am 4. Juni 1913, wo wir unseren Artikel an die Redaktion nach Berlin abschickten, wo er am 7. Juni eingelaufen ist (s. Titelblatt). Aus unserer Tabelle[3]) geht hervor, daß der sog. „kolloidale Stickstoff" aus normalem Menschenharn (nach dem Zinkverfahren) keine Polypeptide und stickstoffhaltigen Kohlenhydrate enthält und aus Harnsäure und Purinbasen besteht, die Spuren von den übrigen Harnbestandteilen enthalten.

Am 14. Juni 1913, also 10 Tage nach Absendung unseres Artikels, gelangten wir in Besitz der Arbeit von Prof. Dr. Salkowski über die Fällbarkeit der Purinbasen durch Zinksalze, die nachweislich am 7. Juni 1913 in Straßburg (s. erste Umschlagseite des Heftes) erschienen ist, und aus der nur hervorgeht, daß die Purinbasen durch Zinksalze gefällt werden, aber die Frage doch offen bleibt, wieviel vom Stickstoff des Zinkniederschlages aus 100 ccm normalen Menschenharns auf die Harnsäure und Purinbasen kommen, und ob der Zinkniederschlag noch andere stickstoffhaltige Bestandteile enthält oder nicht.

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 50.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 228 letzte Zeile.

[3]) l. c. S. 437.

Der Stoffwechsel des Säuglings im Hunger.

Von

Arthur Schloßmann und Hans Murschhauser.

(Unter teilweiser Mitarbeit von Karl Mattison aus Malmö.)

(Aus der Akademischen Kinderklinik in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 29. August 1913.)

Mit 12 Figuren im Text.

1.

Die Erforschung der Vorgänge, die sich im tierischen oder menschlichen Körper abspielen, wenn die Stoffzufuhr oder wenigstens die Energiezufuhr von der Außenwelt aufhört und die gesamten Lebenserscheinungen bestritten werden durch den Umsatz der im Körper abgelagerten Substanz, ist von den verschiedensten Gesichtspunkten aus betrachtet von großem Interesse.

„Der Hungerstoffwechsel", so sagt Luciani[1]), „bildet einen äußerst wichtigen Ausgangspunkt für die Deutung der Erscheinungen des normalen Stoffwechsels bei den verschiedenen Arten der Ernährung, für die Untersuchung der absoluten Größe des Stoffwechsels und für die Ableitung der Theorie der Ernährung, d. h. für die Feststellung des Nahrungsbedürfnisses des Organismus unter verschiedenen physiologischen und abnormen Bedingungen." Von dem Beginn der modernen physiologischen Forschung, nämlich von den Arbeiten Lavoisiers an, ist der Hungerstoffwechsel immer wieder Gegenstand experimenteller Bearbeitung gewesen. Aber so umfangreich die Literatur[2]) über diesen Gegenstand

---

[1]) Luciani, Physiologie des Menschen. 4, 445, 1911. Deutsch bei Gustav Fischer.

[2]) Auf die Literatur über den Hungerstoffwechsel beim Tier und beim Erwachsenen wird nicht eingegangen. Sie findet sich verarbeitet u. a. bei Weber, Über Hungerstoffwechsel. Ergebnisse der Physiol. 1, 702, 1902; ferner auch in der Darstellung von Tigerstädt in Nagels Handbuch 1, 375 und in Oppenheimers Handbuch der Biochemie 4, 2. Teil, sowie auch in Brugschs Hungerstoffwechsel in Oppenheimers Handbuch 2, 1. Hälfte, S. 375.

ist, so eingehende Untersuchungen nach den verschiedensten Richtungen über den Hungerstoffwechsel beim Tier und beim erwachsenen Menschen vorliegen, so wenig ist über das Verhalten des wachsenden Organismus, über die Vorgänge beim Kinde, bekannt, wenn diesem die Zufuhr von außen abgeschnitten wird, wenn also der kindliche Stoffwechsel aus dem Körperbestand gedeckt werden muß. Gerade bei den Schwierigkeiten, die sich speziell der Klarlegung des kindlichen Stoffwechsels in den Weg stellen, wären gut gestützte Kenntnisse über die Vorgänge im Hunger bei gesunden Kindern dringend erwünscht; sie würden den Einblick in den Umsatz bei Nahrungszufuhr erleichtern. Die ganze Frage bekommt aber dadurch eine eminente praktische Bedeutung, daß wir uns des Hungers als eines therapeutischen Hilfsmittels gerade bei der Behandlung von Ernährungsstörungen im frühen Kindesalter mit Vorliebe bedienen. Die Moderichtung, die ja in der relativ jungen pädiatrischen Wissenschaft in bezug auf Entstehung, Deutung und Benennung der Ernährungsstörungen in ihren verschiedenen Formen einem raschen Wechsel unterworfen ist, geht bald dahin, den Hunger, und zwar auch den prolongierten Hunger, als souveränes Heilmittel zu preisen, bald aber auch wieder die Bedenken in den Vordergrund zu schieben, die vom klinischen Gesichtspunkte aus gegen die Nahrungsentziehung sprechen. Wir wollen auf die klinische Seite der Frage hier nicht eingehen. Czerny hat in einer kleinen Monographie [1]) hierüber das Für und Wider der Hungertherapie vorsichtig gegeneinander abgewogen. Er kommt dabei zu dem Schlußsatze, daß Säuglinge sowohl vollständige als partielle Inanition längere Zeit hindurch ohne sichtbaren Schaden ertragen; aber er weist doch auch auf die Gefahren hin, welche die Steigerung der an und für sich bei manchen Ernährungsstörungen vorhandenen Acidose durch die aus dem Hunger sich ergebende Säurebildung im Gefolge haben muß. Er weist mit Recht weiter darauf hin, daß die Folgen der Inanition auf den Stoffwechsel noch durchaus ungenügend studiert sind. Auch Langstein [2]) und Benfey kommen in einem Übersichtsreferat über die Einwirkung des Hungers auf den Säuglingsorganismus zu der Meinung, daß zwar durch das klinische Experiment wie durch den Stoffwechsel die heilende Wirkung des Hungers bei den durch Überfütterung entstandenen Krankheiten des Säuglings immer wieder zur Evidenz erwiesen worden sei, daß aber freilich auch der Hunger ein krankheitsmachendes Agens bedeute. Neuerdings hat sich endlich Iwan Rosenstern [3]) in einem ganz aus-

---

[1]) Czerny, Über die Bedeutung der Inanition bei Ernährungsstörungen der Säuglinge. Sammlung zwangloser Abhandlungen aus dem Gebiete der Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten. **3**, Heft 2, 1911. Herausgegeben von Albu. Halle, Carl Marholds Verlag.

[2]) Langstein und Benfey, Die Einwirkung des Hungers auf den Säuglingsorganismus (Übersichtsreferat). Medizin. Klinik **1911**, Nr. 50, 1941.

[3]) Iwan Rosenstern, Über Inanition im Säuglingsalter. Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde **7**, 1911. Springers Verl., Berlin.

führlichen Referat mit der Frage der Inanition im Säuglingsalter beschäftigt, das eine vortreffliche Übersicht über den Gegenstand gibt, freilich in erster Linie die langandauernde Unterernährung, und nicht die völlige Nahrungsentziehung im Auge hat. Das, was wir eben über den Stoffwechsel des Säuglings im Hunger, und zwar des nicht kranken Säuglings wissen, ist so wenig, daß man darüber nicht viel referieren kann. An positiven Tatsachen hierüber liegt folgendes vor:

Ludwig F. Meyer[1]) wollte erfahren, wie groß der Anteil des ausgeschiedenen N ist, der an und für sich durch den Hungerzustand bedingt wird. Er ließ 3 Kinder verschiedenen Alters, nämlich von $1^1/_2$ Monaten, von 4 Monaten und von 5 Monaten, 2 Tage hungern (Teediät). Am 2. Hungertage wurde die N-Ausscheidung im Harn untersucht. Es ergab sich folgendes.

Tabelle I.

Kind	Alter Monate	Gewicht g	N im Harn in 24 Std. g	N pro Kilo in 24 Std. g	N pro Kilo und Std. g
1. N.	$1^1/_2$	4000	1,118	0,279	0,0116
2. K.	5	5250	0,955	0,182	0,0076
3. M.	4	3750	0,731	0,195	0,0081

Über die Kinder selbst finden sich keine näheren Angaben, vor allem auch nichts über die vorangegangene Ernährung. Kind 2 und besonders Kind 3 sind stark untergewichtig, Meyer selbst bezeichnet seine Werte als solche zurückgebliebener Kinder.

Ludwig F. Meyer und Leo Langstein[2]) setzten Säuglinge 3 Tage lang auf volle Hungerdiät (mit Saccharin gesüßter Tee), um die Acetonausscheidung zu prüfen. Auf die Resultate kommen wir später zurück. Über das Verhalten der Kinder, die N-Ausscheidung usw. ist Näheres nicht gesagt. Rietschel[3]) hat 6 Kinder, nachdem ihre Mütter die Anstalt, in der sie als Ammen waren, verlassen hatten, plötzlich auf Teediät gesetzt und während 2 bis 3 Tagen dabei gelassen. Die Höchstdauer der Hungerdiät war 3 × 24 Stunden. Dann bekamen die Kinder die Brust einer milchreichen Amme und durften sich satt trinken. Unter Umständen wurde auch durch die Flasche nachgefüttert, und zwar auch mit Frauenmilch, einmal mit einem Gemisch von Kuhmilch und Wasser ää unter Zusatz von Milchzucker. Auf die klinischen Erörterungen Rietschels über den Hunger kommen wir gleich zurück. Festgestellt wurde in diesen Versuchen leider nur die Tatsache, daß bei sämtlichen Versuchs-

[1]) Ludwig F. Meyer, Zur Kenntnis des Stoffwechsels bei der alimentären Intoxikation. Jahrb. f. Kinderheilk. 65, 585, 1907.

[2]) Ludwig F. Meyer und Leo Langstein, Die Acidose des Säuglings. Verhandlungen der Ges. f. Kinderheilk. 22. Berlin 1905.

[3]) Rietschel, Inanition und Zuckerausscheidung im Säuglingsalter. Zeitschr. f. Kinderheilk. 7, 282, 1913.

kindern mit einer Ausnahme bei Wiederaufnahme der Nahrungszufuhr sich im Harn starke Reduktion zeigte. 2 mal gelang es auch, typische Osazonkrystalle (von Milchzucker) aus dem Harn zu erhalten. Die Versuche sind später an 3 Kindern mit gleichem Ergebnis wiederholt worden. Beginnt man nach dem Hunger mit kleineren Milchmengen, 50 bis 60 g, so kommt es nicht zur Zuckerausscheidung. Rietschel schließt aus den Versuchen, daß mehrtägiger Hunger bei gesunden jungen Brustkindern (wie alt die Kinder waren und alles übrige ist leider nicht angegeben) zu einer Störung der normalen Verwertung der Nahrung führt und die Assimilationsfähigkeit für Zucker herabsetzt. Hunger kann also schädlich wirken. Die Atemluft war während der ersten 2 Tage stark acetonhaltig, man hatte aber den Eindruck, daß am 3. Hungertage die Menge der ausgeschiedenen Acetonkörper abnahm. Belege und Untersuchungsmethode sind nicht mitgeteilt, so daß, abgesehen von klinisch interessanten Tatsachen, für unser Thema wenig aus dem Hungern der Kinder sich ergibt.

Die brauchbarste Arbeit, um einen Einblick in die uns hier beschäftigende Frage zu gewinnen, ist die Untersuchung von Amberg und Morill[1]). Diese Autoren benutzten zu ihrem Versuche ein Kind von 4 Wochen, das Muttermilch aus der Flasche erhielt. Nach genügend langer Vorperiode hungert das Kind zunächst 18 Stunden, erhält dabei nur Wasser, und dann nochmals 48 Stunden. Leider sind in dieser eigentlichen 48 stündigen Hungerperiode einmal 63 g Frauenmilch verabreicht worden. Das Gewicht des Kindes betrug am Anfang der 48 stündigen Hungerperiode 4815 g, am Ende 4480 g; also eine Abnahme von 335 g, die offenbar auf ungenügende Wasserzufuhr zurückzuführen ist.

Das Ergebnis des Versuches ist folgendes:

Tabelle II.

Alter des Kindes beim Hungerversuch: 33 Tage. Gewicht: 4850 g.
Bisherige Ernährung: Muttermilch.
Erhielt in den vorausgehenden 48 Std.: 3,4441 g N, pro kg u. Std.: 0,0148
im Urin in der gleichen Zeit: 1,1878 g N, „ „ „ „ 0,0051
Zunächst 18 stündiges Hungern:
Im Harn: 0,4166 g N, pro Std. u. kg 0,00475
Dann 48 stündiges Hungern anschließend:
Im Harn: 1,0119 g N, pro Std. u. kg 0,00435

Das Kind hatte jedoch 63 g Milch mit ca. 0,148 g N erhalten. Rechnet man den N dieser intermediären Nahrung ab, so stammen nur 0,8639 g N aus Körpereiweiß, also pro Stunde und Kilogramm 0,00371 g.

Der N-Verbrauch ist ein sehr geringer, im Hunger wenig hinter dem N-Umsatz bei voller Ernährung zurückstehend.

[1]) Amberg und Morill, Ein Stoffwechselversuch an einem Brustkinde mit besonderer Berücksichtigung des Ammoniakkoeffizienten. Jahrb. f. Kinderheilk. 69, 280, 1909.

Endlich sei eine Mitteilung von Keller[1]) erwähnt, der ein 10 Monate altes Kind, 4300 g schwer, rachitisch, blaß und auch sonst im Befinden gestört, zunächst 30 Stunden ohne Nahrung ließ und dann 24 Stunden lang, also in der 31. bis 54. Stunde, den Urin sammelte. In 610 g Harn fanden sich 1,725 g N, das sind pro Kilogramm 0,4 g N, pro Kilogramm und Stunde 0,0166 g N.

Vier Wochen später wurde der Versuch wiederholt, und zwar nach 48stündigem Hunger der Urin von der 49. bis 72. Stunde an untersucht. In 820 ccm Harn waren 1,378 g N. Das Gewicht bei dem 2. Versuche ist nicht genau zu ersehen, es dürfte dem beim ersten nahestehend gewesen sein.

Mit der Erwähnung dieses Kellerschen Versuchs sind wir aber sicher schon aus dem Rahmen des Physiologischen heraus und zu den eigentlich pathologischen Kindern gekommen. Wie sich diese im Hunger verhalten, soll aber hier gar nicht weiter verfolgt werden, da wir uns die Aufgabe gestellt haben, der Frage nachzugehen, wie sich Kinder in völligem oder doch relativem Wohlbefinden dem Hunger gegenüber verhalten. Wir gehen dabei auch nicht auf die Versuche ein, bei denen von einem eigentlichen Hunger nicht die Rede ist, sondern bei denen die Nachwirkung eingeführter Nahrung sich noch geltend macht oder die gerade an dem Punkte angekommen waren, an dem diese Einwirkung aufhört. Wir haben ja selbst eine ganze Anzahl von Versuchen beschrieben, in denen der sogenannte Grundumsatz ermittelt wurde, bei denen also gerade der Moment für die Untersuchung abgepaßt wurde, an dem die zuletzt zugeführte Nahrung den Stoffwechsel direkt nicht mehr beeinflußt. Auch der Versuch von Rubner[2]) und Heubner, die während einer 24stündigen Nahrungsentziehung den Stoffwechsel inkl. der CO_2-Abgabe feststellten, kommt für die Frage des Stoffwechsels im Hunger nicht in Betracht. Denn hier wird eben der Stoff- und Kraftwechsel noch zu erheblichem Teile durch die letzte Mahlzeit bestritten. Unter Hungerstoffwechsel aber verstehen wir die Umsetzungen von latenter Energie in potentielle, bei der der eigentliche Körperbestand angegriffen wird. Eine ganz strenge Trennungslinie läßt sich

---

[1]) Keller, Phosphor und Stickstoff im Säuglingsorganismus. Arch. f. Kinderheilk. 29, 1900.

[2]) Rubner und Heubner, Zur Kenntnis der natürlichen Ernährung des Säuglings. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie 1, 1, 1905.

dabei natürlich nicht ziehen. Wissen wir doch, daß die Zusammensetzung der vorangegangenen Ernährung auf die Art des Körperabbaues im Hunger lange Zeit hinaus einwirkt[1]). Als Grenze beim Hungerstoffwechsel wird man für den praktischen Zweck, den wir verfolgen, eine Karenz von 18 bis höchstens 24 Stunden anzusetzen haben. Vom Ablauf dieser Frist an können wir den Beginn der Hungerperiode rechnen.

2.
Das Verhalten der Kinder im Hunger.

Nach den Erfahrungen, die wir bei unseren Untersuchungen über den Grundumsatz der Säuglinge gemacht haben, konnten wir erwarten, daß Kinder selbst eine 72stündige Nahrungsentziehung leicht über sich ergehen lassen würden. Haben wir ja doch nicht selten in früheren Zeiten schwer kranke Kinder diese Frist und noch länger hungern lassen oder in anderen Fällen gesehen, daß alle gereichte Nahrung wieder herausgebrochen wurde. Aber die Erfahrungen, die wir bei den Versuchen gemacht haben, waren doch auch für uns ganz erstaunliche. Es zeigt sich nämlich, daß bei richtiger Anordnung der Versuche das Kind über die Tatsache des Hungers ganz hinweggetäuscht werden kann. Voraussetzung ist natürlich, daß in der Lebensweise des Säuglings möglichst keine für ihn bemerkbare Veränderung vor sich geht, daß also ganz regelmäßig zu den Zeiten, zu denen das Kind sonst seine Mahlzeit erhielt, die Wasserzufuhr statthat. Wir haben während der Versuche den Kindern natürlich Wasser gereicht, und zwar genau diejenige Menge Flüssigkeit, die das Kind sonst zu trinken gewohnt ist. Das Wasser war mit 3 ‰ NaCl versetzt und mit Saccharin gesüßt. Brustkinder muß man vor solchen Versuchen an das Trinken aus der Flasche gewöhnen. Erst wenn sie sich hiermit abgefunden haben, darf man die Frauenmilch durch etwas anderes ersetzen. Ausnahmslos haben die Kinder die Wasserflasche gut genommen. Zuweilen haben sie bei der ersten Verabreichung einiges Mißbehagen gezeigt, aber auch nicht in erheblicherem Grade als manche Kinder an und für sich auf eine Veränderung der Nahrung

[1]) Siehe hierzu Schloßmann und Murschhauser, Über den Einfluß der vorangegangenen Ernährung auf den Stoffwechsel im Hunger. Diese Zeitschr. 58, 265, 1913.

reagieren. Ganz besonders instruktiv war das Verhalten des Kindes G., das sich als ausgezeichnetes Untersuchungsobjekt erwies. Dieses Kind pflegte nach der Leerung seiner Flasche ganz regelmäßig durch 2 bis 3 Minuten langes Schreien seiner Unzufriedenheit Ausdruck zu geben, daß die schöne Zeit des Trinkens vorüber ist. Dabei war es völlig gleich, ob in der Flasche eine sehr calorienreiche Nahrung, ein Gemisch von Buttermilch mit Sahne von ca. 800 Calorien pro Liter oder Salzwasser mit Saccharin von 0 Calorien pro Liter enthalten war. Auch ehe die Flasche kam, pflegte sich das Kind immer etwas ungebärdig zu zeigen, aber auch wieder genau in der gleichen Weise während der Ernährung mit ca. 140 Calorien pro Kilogramm oder im Hunger. Auch in seinem sonstigen Verhalten zeigte dieses Kind, aber auch die anderen, keinerlei Veränderung. Besonders war Kind G. immer vergnügt. Sobald man an sein Bett herantrat, lachte es, begann die Händchen entgegenzustrecken, kurz und gut zeigte keinerlei Zeichen von Unbehagen. Nach unseren Beobachtungen können wir den Hunger durchaus nicht als etwas Quälendes oder in der ersten Zeit unangenehm Empfundenes bezeichnen. Wir können daher auch nicht der schematischen Darstellung Lucianis[1]) folgen. Dieser vortreffliche Kenner des Hungers, dem wir ja eine ausführliche Monographie über diesen Gegenstand verdanken, teilt nämlich die Zeit der Nahrungsenthaltung in drei Perioden. Die erste ist die eigentliche Hungerzeit, die mit einem Gefühl eines gewissen Unbehagens, eben nämlich des Hungers in dem üblichen Sinne des Wortes verknüpft sein soll. Dann, nach 3 bis 4 Tagen, soll der Hunger erlöschen und nun eine Periode der physiologischen Inanition folgen, die durch allmähliche Abnahme des täglichen Verbrauchs und durch eine entsprechende Verminderung der Wärmebildung charakterisiert ist. Und endlich kommt die krankhafte Inanition oder Krise, die dem Tod vorangeht.

Der Anschauung Lucianis, daß die ersten Tage der Nahrungsenthaltung mit unangenehmen Empfindungen verbunden seien, hat seinerzeit schon Prausnitz[2]) auf Grund seiner Versuche an sich und zehn anderen Personen widersprochen. Die Versuchs-

---

[1]) Luciani, Physiologie des Menschen **10**, 449.

[2]) Prausnitz, Die Eiweißzersetzung beim Menschen während der ersten Hungertage. Zeitschr. f. Biol. **29**, 1892.

personen von Prausnitz gingen ihrer gewohnten Beschäftigung nach, und bis auf Nachlassen der gewohnten Körperfrische war an ihnen nichts zu bemerken. Er selbst hat zwei Versuche an sich ausgeführt, ohne daß es ihm möglich war, eine Schilderung des vielbesprochenen Hungergefühls zu geben. Beim Ausfallen der ersten Mittagsmahlzeit merkte er, daß ihm etwas fehle, an das er sonst gewöhnt war, wie man das Ausgehen vermißt, wenn man durch irgendeine Ursache einige Tage ans Zimmer gefesselt ist. Von bestimmten Störungen, insbesondere von Schmerzen, Drücken, Bohren am Magen oder Darm konnte weder er noch sonst eine Versuchsperson etwas bemerken. Auch Cetti erklärte nach 9 tägiger Nahrungsenthaltung, nie das geringste von Hunger oder Appetit gefühlt zu haben.

Ebenso hat Voit nach Mitteilung von Prausnitz an hungernden Hunden keine unangenehmen Empfindungen beobachten können; nur am ersten Hungertage bellte der Hund zu der Zeit, zu der er gewöhnlich sein Fressen erhielt.

Daß unsere Säuglinge sich während des Hungerns so wohl fühlten, ist einmal auf die Täuschung durch Verabreichung der gesüßten Wasserflasche zu den gewohnten Nahrungszeiten zurückzuführen, zum anderen aber darauf, daß wir durch die Regelung der Wasserzufuhr größere Gewichtsabnahmen völlig vermieden haben. Rietschel[1]) ist anders vorgegangen und hat die Verhältnisse des Säuglings brüsk verändert, indem er sie direkt von der Brust der Mutter an die Flasche mit Wasser brachte. Seine Kinder schrien daher am ersten Tage der Inanition; er deutet das als Ausdruck des Hungergefühls. Am zweiten Tage sind einzelne Kinder wesentlich ruhiger bei ihm gewesen, sie trinken noch lebhaft, sind aber entschieden etwas apatischer, ihr Blick bleibt klar, das allgemeine Aussehen gut. Am dritten Tage steigert sich die Mattigkeit, so daß manche Kinder, die vorher recht gut an der Brust der Mutter getrunken haben, beim Anlegen an die Brust ermüden, selbst wenn sie an einer leicht fließenden Brust einer Amme trinken. Alle diese Beobachtungen wollen freilich nicht viel sagen, weil eben das brüske Abbringen der Kinder von der Brust ein Eingriff ist, auf den erfahrungsgemäß mit Unruhe und Unbe-

[1]) a. a. O. Zeitschr. f. Kinderheilk. 7, 1913.

hagen geantwortet wird. Schreien bei gleichzeitiger Nahrungsentziehung wird natürlich einen rascheren Kraftverbrauch nach sich ziehen, als wir ihn bei unseren ruhig bleibenden Säuglingen sehen konnten.

Ich füge gleich hier ein, daß auch unsere übrigen Beobachtungen von den Rietschelschen abweichen. Die Kinder nahmen bei uns nach Ablauf der Hungerperiode die Nahrung gut an und erbrachen nicht. Freilich haben wir vorsichtig mit der Wiederverabreichung von Milch begonnen. Die erste Flasche wurde in zwei Portionen mit 1 bis $1^1/_2$ stündiger Zwischenpause zwischen den beiden Hälften verabfolgt. Auch haben wir niemals, weder bei Frauenmilchverfütterung noch bei Darreichung von Kuhmilchmischungen auch nur die Spur einer Zuckerausscheidung gesehen. Diese recht wichtige Differenz zwischen den Befunden Rietschels und den unsrigen dürfte aber wahrscheinlich zwanglos durch das verwendete Versuchsmaterial zu erklären sein. Leider macht Rietschel keine Angaben über das Alter seiner Kinder, doch liegt die Vermutung nahe, daß es sich um sehr junge, wenige Wochen alte Säuglinge gehandelt hat, während wir fast nur ältere, mehrmonatliche Säuglinge untersucht haben. Irgendwelche besonderen Erscheinungen im Verhalten der Kinder haben wir auch sonst nicht wahrgenommen. Der Stuhl ändert 18 bis 24 Stunden nach der letzten Nahrungsverabreichung seinen Charakter. Einige Kinder zeigen 1 bis 2 mal in der darauffolgenden Zeit kleine Kleckse von Hungerstuhl, schleimig und braun gefärbt. Andere entleeren diesen Hungerstuhl spritzend mit erheblichen Wassermengen.

Der Puls zeigt während der Dauer und auch am Ende der Hungerperiode weder qualitativ noch quantitativ bei Palpation der Radialis eine Veränderung.

Auf das Verhalten der Temperatur wird bei einzelnen Versuchen noch näher eingegangen.

3.
Der N-Umsatz im Hunger.

Der N-Umsatz im Hunger läßt sich am leichtesten studieren; es genügt, den Harn zu untersuchen.

Nach Ablauf einer Frist von 18 Stunden nach der letzten Mahlzeit stammt, so kann man ruhig annehmen, aller N des

Harns aus zersetzter Körpersubstanz. Da der N-Gehalt des Hungerstuhls sehr gering ist, so kann man diesen geradezu vernachlässigen und durch Multiplikation des N des Harns mit 6,25 einen Rückschluß auf die Menge zersetzten Körpereiweißes ziehen. Bemerkt sei, daß z. B. Amberg und Morril in 72stündigem Hunger bei ihrem Versuchskinde 0,07 g N im Stuhle fanden. Dabei war aber einmal eine Menge von 63 g Milch zwischendurch verfüttert worden, so daß von den 0,07 g N noch ein Teil, und zwar kein zu geringer, auf Nahrungseiweiß zu beziehen ist.

Die Kenntnis von der Menge N, die während des Hungers im Harn ausgeschieden wird, ermöglicht uns also einen Rückschluß auf die Zersetzung von Körpereiweiß. Die Größe dieser Zersetzung zu erfahren, ist aber bei allen Stoffwechselversuchen, die uns Aufschluß über die katabolischen Vorgänge im Körper geben sollen, von großer Wichtigkeit. Kennen wir den O-Verbrauch und die CO_2-Ausscheidung und wissen wir, wieviel Eiweiß zerlegt worden ist, so können wir rechnerisch feststellen, wieviel Fett und wieviel Glykogen zerstört worden sind. Damit haben wir aber die Möglichkeit an der Hand, neben dem Stoffumsatz auch den Energieumsatz klarzulegen.

Schon in unserer Arbeit über den Grundumsatz und Nahrungsbedarf des Säuglings[1]) haben wir darauf hingewiesen, wie wenig über die Eiweißzersetzung im Hunger beim gesunden Säugling bekannt ist, und in Aussicht gestellt, Material für die Entscheidung dieser uns wichtig erscheinenden Frage beizubringen. Vereinzelte Versuche wurden gelegentlich angestellt, doch kam die Bearbeitung des Hungerstoffwechsels so eigentlich erst in Fluß, nachdem eine Reihe von Versuchen, die Herr Dr. Mattison aus Malmö auf unsere Veranlassung anstellte, das Interesse an dem ganzen Problem brennend werden ließ. Leider mußte Dr. Mattison zeitiger als er dachte und als uns auch in Rücksicht auf diese Arbeit lieb war, nach Schweden zurück. Seine Untersuchungen (Versuch 1 bis 15), die jetzt wiedergegeben werden, bildeten aber den Ausgang für unsere weiteren Versuche.

---

[1]) Schloßmann und Murschhauser, Der Grundumsatz und Nahrungsbedarf des Säuglings gemäß Untersuchungen des Gasstoffwechsels. Diese Zeitschr. 26, 14, 1910.

Versuch 1 (9. bis 10. IV.).

Heinrich St. Journ.-Nr. 3816.

Geboren am 11. I. 1913, aufgenommen am 5. II. 1913. Frühgeburt.

Bisherige Ernährung: Frauenmilch 1000 g, bis 7. IV. dazu 125 g Buttermilch. Am 8. IV. 1000 g Frauenmilch ohne Buttermilch.

Letzte Mahlzeit am 9. IV. um 1 Uhr nachm., von da ab entsprechende Mengen Saccharinwasser, und

wieder Nahrung am 10. IV. um 9 Uhr abends.

Gewicht: 9. IV. 3890 g
10. IV. 3770 g
11. IV. 3790 g

Der Harn wurde von 9 Uhr früh am 10. IV. in zwei 6stündlichen Portionen aufgefangen.

1. Von 9 Uhr früh bis 3 Uhr nachm. 122 ccm = 128,1 mg N,
2. " 3 " nachm. " 9 " abends 90 " = 186,5 " "

314,6 mg N.

Das Kind, im Anfang des Versuches ein wenig unruhig, schreit auch später ein wenig. Trinkt gut.

Resümee: 32stündige Nahrungsentziehung. Nach 20stündigem Hunger wird der Harn der nächsten 12 Stunden (21. bis 32. Stunde) aufgefangen. Er enthielt 0,3146 g N. Pro kg und Stunde also 0,00674 g N.

Vorangehende Ernährung: Abnorm große Mengen Frauenmilch und etwas Buttermilch.

Versuch 2 (10. bis 11. IV.).

Franz E. Journ.-Nr. 3768.

Geboren am 26. X. 1912, aufgenommen am 19. I. 1913. Wegen Brustkatarrh in die Klinik geschickt.

Bisherige Ernährung: 900 g Caseinmilch mit 8% Nährzucker + 100 g Mondaminbrei.

Letzte Mahlzeit um 1 Uhr nachm. am 10. IV.
Wieder Nahrung " 7 " " " 11. IV.

Gewicht: 10. IV. 5440 g
12. IV. 5400 g
13. IV. 5400 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 10. IV. ab in 6stündlichen Portionen aufgefangen (während der Nacht 12 Stunden).

1.	Von 1^h nachm.	bis 7^h abends	154 ccm	=		777,0 mg N,
2.	" 7^h abends 10. IV.	" 7^h morgens	261 "	=	2 ×	593,8 mg N,
3.	" 7^h morgens	" 1^h nachm.	135 "	=		491,4 mg N,
4.	" 1^h nachm.	" 7^h abds. 11. IV.	193 "	=		618,8 mg N.

Das Kind ist während des Hungerns ganz ruhig gewesen, hat sich nicht viel bewegt, meistens gut geschlafen.

Resümee: Das Kind erhielt große Mengen Eiweiß und viel Kohlenhydrat als Nahrung. Im Alter von $5\frac{1}{2}$ Monaten 30stündige Inanition.

In den ersten 18 Stunden 1,965 g N = 0,0201 g pro Kilo und Stunde,
" " nächsten 12 " 1,1102 g " = 0,017 g " " " "

Versuch 3 (11. bis 12. IV.).

Joseph H. Journ.-Nr. 3840.

Geboren am 16. II. 1913, aufgenommen am 17. II. 1913 wegen Hasenscharte.

Bisherige Ernährung: 600 g Caseinmilch.

Letzte Mahlzeit am 11. IV. um 1 Uhr nachm.
Wieder Nahrung „ 12. IV. „ 5 „ „

Gewicht: 17. II. 2930 g
10. IV. 3510 g
11. IV. 3490 g
12. IV. 3390 g
13. IV. 3390 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 11. IV. in 6stündlichen Portionen aufgefangen (während der Nacht 12stündlich). Aus einem Mißverständnis ist die Portion 4 verloren gegangen.

1. Von 1h nachm. bis 7h abends 192 ccm = 575,2 mg N,
2. „ 7h abends „ 7h morgens 184 „ = 2 × 271,8 „ „
3. „ 7h morgens „ 1h nachm. 142 „ = 239,8 „ „

Das Kind hat am Anfang etwas geschrien und sich viel bewegt. Am 11. IV. abends auch ein wenig unruhig während 1 Stunde. Sonst ganz ruhig gewesen.

Resümee: Das Kind hat eine eiweißreiche Kost gehabt. In den ersten 18 Stunden der Inanition scheidet das Kind 1,1188 g N aus = 0,0176 g N. pro Kilo u. Stunde.

In den nächsten 6 Stunden des Hungerns 0,2398 g N = 0,0114 g N. pro Kilo u. Stunde.

Versuch 4 (12. bis 13. IV.).

Aloys K. Journ.-Nr. 3843.

Geboren am 8. I. 1913, aufgenommen am 19. II. 1913 wegen Lues.

Bisherige Ernährung: Früher Frauenmilch, vom 20. III. an abgestillt und vom 10. IV. ab Halbmilch, 800 g pro Tag.

Letzte Mahlzeit am 12. IV. um 1 Uhr nachm.
Wieder Nahrung „ 13. IV. „ 9 „ abends.

Gewicht: 19. II. 3840 g
11. IV. 4170 g
12. IV. 4170 g
14. IV. 4040 g
15. IV. 4080 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 12. IV. in 6stündlichen Portionen aufgefangen (während der Nacht 12stündlich).

1. Von 1h nachm. bis 7h abends 165 ccm = 281,8 mg N
2. „ 7h abends „ 7h morgens 229 „ = 2 × 221,0 „ „
3. „ 7h morgens „ 1h nachm. 160 „ = 252,2 „ „
4. „ 1h nachm. „ 7h abends 144 „ = 298,5 „ „

Das Kind ist während des Versuchs ganz ruhig gewesen.

Resümee: Das auf Halbmilch abgestillte Kind hungert 30 Stunden.

In den ersten 18 Stunden scheidet es 0,1736 g N aus = 0,0096 g pro kg und Stunde. In den nächsten 12 Stunden 0,1321 g N = 0,011 g pro kg und Stunde. Die Ernährung war sehr sparsam; das Kind ging langsam voran.

Versuch 5 (13. bis 14. IV.).

Kind G. Journ.-Nr. 3844.

Geboren am 11. II. 1913. 12. Kind, davon 7 am Leben, erhält zu Hause die Brust 3 Tage lang, dann verdünnte Milch. Wird aufgenommen am 10. Lebenstage, 20. II., wegen infektiösem Pemphigus, besonders am Kopfe. Inhalt der Blasen Leukocythen und Staphylokokken, keine Spirochäten. Wassermann negativ. Die Mutter stirbt am 25. II. an Sepsis.

Aufnahmegewicht 3260 g. Das Kind erhält Frauenmilch, der Pemphigus geht weiter und bildet neue Blasen. Es kommen Phlegmone am rechten Knie, am Fußgelenk und an einem Finger hinzu, die Incisionen notwendig machen. Vom 19. III. macht sich geringe Besserung bemerkbar. Am 1. IV. wiegt das Kind 3360 g und geht nunmehr leidlich voran. Am 8. IV. ist das Gewicht 3460 g. Zur Anregung der Appetenz werden zur Frauenmilch — ca. 500 g täglich — 100 g Buttermilch, und zwar 20 g bei jeder Mahlzeit, zugefüttert. Am 13. und 14. IV. wird der erste Versuch gemacht. Gewicht am 12. IV. 3570 g, am 13. IV. 3620 g.

Letzte Mahlzeit am 13. IV. um 9 Uhr vormittags.
Wieder Nahrung „ 14. IV. „ 9 „ abends.
Gewicht: 20. II. 3290 g
12. IV. 3570 g
13. IV. 3620 g
15. IV. 3640 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 13. IV. in 6stündlichen Portionen aufgefangen (während der Nacht 12stündlich).

1.	Von 1^h nachm.	bis	7^h abends	62 ccm	=	128,6	mg N
2.	„ 7^h abends	„	7^h morgens	150 „	= 2 ×	169,0	„ „
3.	„ 7^h morgens	„	1^h nachm.	103 „	=	234,7	„ „
4.	„ 1^h nachm.	„	7^h abends	39 „	=	48,3	„ „

Das Kind ist ruhig gewesen.

Resümee: Bisher Frauenmlich, erst seit einigen Tagen 100 g Buttermilch als Zulage. Es hungert 36 Stunden.

Der Urin enthielt:

von der 4. bis 10. Std.	0,1286 g N	= 0,00591 g N	pro Std. und kg
„ „ 11. „ 22. „	0,3380 g „	= 0,00776 g „	„ „ „ „
„ „ 23. „ 34. „	0,2830 g „	= 0,00652 g „	„ „ „ „

Die N-Zersetzung steigt im absoluten Hunger gegenüber der Endperiode der Verdauung (Typus Brustkind).

Versuch 6 (14. bis 15. IV.).

Joseph H. (siehe auch Versuch 3).

Dasselbe Kind wie in Versuch 3. Hat von 5 Uhr nachm. am 12. IV. wieder Caseinmilch bekommen, 700 g pro Tag.

Letzte Mahlzeit am 14. IV. um 1 Uhr nachm.
Wieder Nahrung „ 15. IV. „ 9 „ abends.
Gewicht: 13. IV. 3390 g
14. IV. 3400 g
16. IV. 3360 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 14. IV. in 6stündlichen Portionen aufgefangen (nachts 12stündlich).

1.	Von 1h nachm.	bis 7h abends	172 ccm	=	494,6 mg N	
2.	„ 7h abends	„ 7h morgens	165 „	=	2 × 275,9 „ „	
3.	„ 7h morgens	„ 1h nachm.	114 „	=	315,2 „ „	
4.	„ 1h nachm.	„ 7h abends	118 „	=	238,6 „ „	

Das Kind ist ruhig gewesen.

Resümee: Das Kind erhält jetzt 100 g Nahrung mehr als im vorigen Versuch. Es hungert 32 Stunden.

In den ersten 18 Std. scheidet es 1,0464 g N aus = 0,0171 g pro kg u. Std.
„ „ nächsten 12 „ „ „ 0,5538 g „ „ = 0,0136 g „ „ „ „

Versuch 7 (15. bis 16. IV.).

Erich C. Journ.-Nr. 3777.

Geboren am 30. IX. 1912, aufgenommen am 23. I. 1913 wegen schlechter Allgemeinernährung (Jammerbarer Atrophiker).

Bisherige Ernährung: Frauenmilch mit gelegentlichen Beigaben. In der letzten Zeit nur Frauenmilch, 750 g pro Tag.

Letzte Mahlzeit am 15. IV. um 9 Uhr früh.
Wieder Nahrung „ 16. IV. „ 9 „ abends.
Gewicht: 23. I. 3680 g
15. IV. 3720 g
16. IV. 3910 g (Starke Wasserretention, die sich in 3 Tagen ausgleicht).

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 15. IV. in 6stündlichen (nachts 12stündlichen) Portionen aufgefangen.

1.	Von 1h nachm.	bis 7h abds.	86 ccm	=	111,3 mg N +	Spuren (0,9 mg) von Aceton[1])
2.	„ 7h abds.	„ 7h morg.	119 „	=	2 × 229,7 „ „ +	2 × 5,4 mg Aceton
3.	„ 7h morg.	„ 1h nachm.	97 „	=	297,3 „ „ +	9,0 „ „
4.	„ 1h nachm.	„ 7h abds.	84 „	=	202,4 „ „ +	10,8 „ „

Am 18. IV. wurden ca. 200 ccm Harn aufgefangen und ergaben Spuren von Aceton (1,8 mg).

Kind ist ruhig gewesen.

Resümee: Das Kind hat Frauenmilch bekommen. Es hungert jetzt 36 Stunden.

In der 5. bis 10. Std. scheidet es 0,1113 g N aus = 0,0050 g pro Std. u. kg
„ „ 11. „ 22. „ „ „ 0,4594 g N „ = 0,0100 g „ „ „ „
„ „ 23. „ 34. „ „ „ 0,4997 g N „ = 0,0112 g „ „ „ „

---

[1]) Das Aceton wurde nach der Methode von Embden und Schmitz bestimmt.

Wir sehen hier wieder ein Ansteigen der N-Ausscheidung bei Andauern des Hungers. Das atrophische Kind, das ziemlich viel Frauenmilch bekam, verbraucht also im wirklichen Hunger mehr Körper-N als in der Anfangs- und Schlußperiode der Verdauung.

Versuch 8 (16. bis 18. IV.).

Heinrich E.

Geboren am 1. I. 1913, aufgenommen am 10. I. 1913. Ammenkind. Bei der Aufnahme: Ekzem (Haut schuppt in großen Lamellen).

Bisherige Ernährung: Frauenmilch, am 15. IV. 700 g.

Letzte Mahlzeit am 16. IV. um 9 Uhr früh.

Wieder Nahrung „ 17. IV. „ 9 „ abends.

Gewicht: 1. I. 3330 g
10. I. 3030 g
16. IV. 4780 g
19. IV. 4930 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 16. IV. bis 7 Uhr abends am 18. IV. in 6stündlichen (nachts 12stündlichen) Portionen aufgefangen.

1. Von 1^h nachm.	bis 7^h abds.	125 ccm	=	192,9 mg N	+	3,6 mg Aceton
2. „ 7^h abds.	„ 7^h morg.	125 „	=	2 × 138,1 „ „	+	2 × 8,4 „ „
3. „ 7^h morg.	„ 1^h nachm.	108 „	=	269,7 „ „	+	13,1 „ „
4. „ 1^h nachm.	„ 7^h abds.	98 „	=	201,5 „ „	+	15,5 „ „
5. „ 7^h abds.	„ 7^h morg.	248 „	=	2 × 247,7 „ „	+	2 × 8,8 „ „
6. „ 7^h morg.	„ 1^h nachm.	191 „	=	221,6 „ „	+	0 „ „
7. „ 1^h nachm.	„ 7^h abds.	143 „	=	194,0 „ „	+	— „ „

Kind während des Versuches ruhig gewesen.

Resümee: Exsudatives Ammenkind. Hungert 36 Stunden. Ausschließlich bisher an der Brust der Mutter ernährt.

5. bis 10. Std. d. Hungers: N-Ausscheidung 0,1929 g N = 0,006 72 pro Std. u. kg
11. „ 22. „ „ „ „ 0,2760 g N = 0,004 80 „ „ „ „
23. „ 34. „ „ „ „ 0,4712 g N = 0,008 215 „ „ „ „
Nachperiode: 18. früh bis abends: 12 Std.
N-Ausscheidung 0,4156 g N = 0,007 24 „ „ „ „

Versuch 9 (17. bis 19. IV.).

Richard B. Journ.-Nr. 3581.

Geboren am 16. VIII. 1912, aufgenommen am 18. IX. 1912.

Bisherige Ernährung: Caseinmilch (800 g) + Brei (100 g).

Letzte Mahlzeit am 17. IV. um 1 Uhr nachm.

Wieder Nahrung „ 18. IV. „ 9 „ abends.

Gewicht: 18. IX. 1912 2500 g
17. IV. 1913 4800 g
19. IV. „ 4600 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachm. am 17. IV. bis 7 Uhr morgens am 19. IV. in 6stündlichen (nachts 12stündlichen) Portionen aufgefangen.

1. Von 1h nachm. bis 7h abds. 148 ccm = 548,0 mg N + Spuren v. Aceton
2. " 7h abds. " 7h morg. 163 " = 2×499,6 " " + 2×15,7 mg "
3. " 7h morg. " 1h nachm. 158 " = 827,3 " " + 76,1 " "
4. " 1h nachm. " 7h abds. 120 " = 360,6 " " + 23,7 " "
5. " 7h abds. " 7h morg. 305 " = 2×673,4 " " + 2× 9,3 " "

Das Urinal wurde (aus Mißverständnis) um 7 Uhr früh am 19. IV. weggenommen.

Kind ruhig gewesen.

Resümee: Das Kind nimmt in der letzten Zeit vor dem Versuch nicht recht zu, trotz genügender Nahrungszufuhr. Es hungert 32 Stunden.

Erste 18 Stunden des Hungers: 1,5472 g N = 0,0179 g N pro Std. u. kg
Folgende 12 " " " 1,1879 g N = 0,0206 g N " " " "
12 Stunden nach Wiederaufnahme der Ernährung: 1,3468 g N = 0,0234 g N " " " "

Das Kind war ein starker Einreißer von N-Substanz. Auch im Hunger sind die Werte sehr hoch. Dementsprechend auch die Acetonausscheidung.

Versuch 10 (19. bis 21. IV.).

Alfred R. Journ.-Nr. 3946.

Geboren am 23. VII. 1912, **aufgenommen** am 7. IV. 1913 wegen Ekzem.

Bisherige Ernährung: Vollmilch (800 g) + Brei (200 g) + Kompott (40 g).

Letzte Mahlzeit am 19. IV. um 9 Uhr früh.
Wieder Nahrung " 20. IV. " 9 " abends.
Gewicht: 7. IV. 6420 g
19. IV. 6800 g
22. IV. 6650 g

Der Harn wurde von 7 Uhr früh am 19. IV. bis 7 Uhr abends am 21. IV. in 6stündlichen (nachts 12stündlichen) Portionen aufgefangen.

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Acetonmenge mg	β-Oxybuttersäure mg
1. Von 7h früh 19. IV. bis 1h nachm.	127	971,4	Kein Acet.	—
2. " 1h nachm. " " 7h abds.	154	881,8	Spuren	—
3. " 7h abds. " " 7h morg.	128	2×622,7	2×40,5	—
4. " 7h morg. 20. IV. " 1h nachm.	200	899,4	102,1	216,4[1])
5. " 1h nachm. " " 7h abds.	115	419,6	47,4	—
6. " 7h abds. " " 7h morg.	360	2×752,8	2×34,2	2×71,9
7. " 7h morg. 21. IV. " 1h nachm.	266	880,9	17,3	100,1
8. " 1h nachm. " " 7h abds.	238	809,1	63,6	63,4
9. Harnprobe am 23. IV.	—	—	Kein Acet.	—

Kind ruhig gewesen.

Resümée: Mächtiges nässendes Ekzem. Sonst sehr kräftiges Kind. Das Ekzem wird rasch beseitigt. Kind hungert 36 Stunden.

[1]) Die β-Oxybuttersäure nach Shindos Methode bestimmt.

Erste Stunden des Hungers (24 Std., davon 22 nach der letzten Mahlzeit) . . . . . = 3,0986 g N = 0,0189 g N pro Std. u. kg
23. bis 34. Stunde des Hungers = 1,3190 g N = 0,0162 g N „ „ „ „
Nachperiode wieder 24 Stunden, davon 22 nach der ersten Mahlzeit . . . . = 3,1956 g N = 0,0195 g N „ „ „ „

Das Kind reißt stark N-haltige Substanz ein; entsprechend hohe Acetonausscheidung.

Versuch 11 (22. bis 24. IV.).

Johann A. Journ.-Nr. 3959.

Geboren am 14. I. 1913, aufgenommen am 10. IV., unehelich. Soll angeblich als kräftiges Kind geboren sein. 2. bis 4. Tag Zuckerwasser mit Tee, dann $^1/_3$ Milch, $^2/_3$ Wasser, zuletzt mit Zusatz von Nestles Kindermehl. Die letzten 3 Tage Haferflocken mit Zucker und Wasser. Die Mutter konnte nicht stillen, da sie eine Geschwulst im Leibe bekommen hat. Bei der Aufnahme am 10. IV. atrophisches Kind, Fettpolster sehr gering, Haut schlaff, läßt sich in Falten abheben. Wassermann- und Tuberkulinreaktion beide negativ. Kind trinkt schlecht, wird löffelweise ernährt. Erhält Tropfeneinlauf und 50 ccm Kochsalzlösung subcutan. Erbrechen läßt am 2. Tage nach. Vom 15. IV. kommt das Kind an die Brust. Bekommt noch weiter Kochsalzinfusion. Am 21. IV. wird der erste Stoffwechselversuch gemacht.

Bisherige Ernährung: Frauenmilch (400 bis 475 g).
Letzte Mahlzeit am 22. IV. um 9 Uhr früh.
Wieder Nahrung „ 23. IV. „ 9 „ abends.
Gewicht: 10. IV. 2590 g
21. IV. 2710 g
25. IV. 2750 g

Der Harn wurde von 7 Uhr abends am 22. IV. bis 7 Uhr abends am 24. IV. in 6stündlichen (nachts 12stündlichen) Portionen aufgefangen.

	Harnmenge	N-Menge	Acetonmenge	β-Oxybuttersäure
	ccm	mg	mg	mg
1. Von 7h abds. 21. IV. bis 7h früh	38	2×54,4	—	Harnmenge für die Untersuchung nicht hinreichend.
2. Von 7h früh 22. IV. bis 1h nachm.	80	81,2	—	
3. „ 1h nachm. „ „ 7h abds.	57	71,1	—	
4. „ 7h abds. „ „ 7h früh	74	2×59,2	Spuren	
5. Von 7h früh 23. IV. bis 1h nachm.	80	134,4	6,3	
6. „ 1h nachm. „ „ 7h abds.	60	94,1	Spuren	
7. Von 7h abds. 23. IV. bis 7h früh	68	2×141,7	2×3,2	
8. „ 7h früh 24. IV. „ 1h nachm.	80	176,4	4,8	
9. „ 1h nachm. „ „ 7h abds.	70	100,8	—	

Kind ruhig gewesen.

Resümee: Eine Frühgeburt in Reparation, die an der Brust gut vorangeht. Hungert 36 Stunden.

I. Vorperiode (1) 12 Std. . . . . 0,1088 g N = 0,003346 g N pro Std. u. kg
II. 1. Hungerperiode (2, 3, 4) 24 Std., davon 22 nach der letzten Mahlzeit . . . . . . 0,2707 g N = 0,004150 g N " " " "
III. 2. Hungerperiode (5 u. 6) 12 Std., 23. bis 34. Std. nach der letzten Mahlzeit . . . . . 0,2285 g N = 0,007030 g N " " " "
IV. Nachperiode (7, 8, 9) 24 Std., davon 22 wieder bei der üblichen Ernährung . . . . 0,5606 g N = 0,008600 g N " " " "

Das Kind reißt sehr wenig Eiweiß ein, im Hunger mehr als in der Vorperiode und kommt in der Nachperiode auch noch wesentlich höher als in der Vorperiode. Die Acetonausscheidung ist minimal.

Versuch 12 (23. bis 26. IV.).

Heinrich S., Journ.-Nr. 3979.

Geboren am 19. II. 1913, aufgenommen am 21. IV. 1913 wegen Lues.

Bisherige Ernährung: Allerhand vor der Aufnahme versucht.
Letzte Mahlzeit am 24. IV. um 9 Uhr früh.
Wieder Nahrung " 25. IV. " 9 " abds. (Frauenmilch).
Gewicht: 21. IV. 3790 g
23. IV. 3650 g
27. IV. 3650 g

Der Harn wurde von 9 Uhr abends am 22. IV. bis 7 Uhr abends am 26. IV. in 6 stündlichen (nachts 12 stündlichen) Portionen aufgefangen.

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Aceton mg	β-Oxybuttersäure mg
1. Von 9h abds. 22. IV. bis 7h früh	40	273,8	—	—
2. " 7h früh " " 1h nachm.	74	447,4	—	—
3. " 1h nachm. " " 7h abds.	132	323,8	—	—
4. " 7h abds. 23. IV. " 7h früh	92	2×216,4	—	—
5. Von 7h früh 24. IV. bis 1h nachm.	164	468,8	1,4	—
6. " 1h nachm. " " 7h abds.	66	180,6	—	} 36,9
7. " 7h abds. " " 7h früh	90	2×183,3	2×0,7	
8. Von 7h früh 25. IV. bis 1h nachm.	143	419,9	17,0	—
9. " 1h nachm. " " 7h abds.	114	240,1	8,3	—
10. Von 7h abds. 25. IV. " 1h nachts	35	53,9	—	—
11. " 1h nachts " " 7h früh	160	428,4	—	38,6
12. Von 7h früh 26. IV. bis 1h nachm.	90	180,2	—	—
13. " 1h nachm. " " 7h abds.	62	105,6	—	—

Resümee: Ein luetisches Kind, das vorher Kuhmilch und allerhand Surrogate erhalten hat, bekommt in der Klinik 5 Tage lang Frauenmilch, hungert 36 Stunden, dann wieder Frauenmilch.

Vorperiode (1, 2, 3, 4) 34 Std., Ernährung mit Frauenmilch	1,4778 g N = 0,01190 g	pro Std. u. Kilogr.
I. Hungerperiode (5, 6, 7) 24 Std., davon 22 Std. nach der letzten Mahlzeit	1,0160 g N = 0,01160 g	„ „ „ „
II. Hungerperiode (8, 9) 12 Std., 23 Std. nach der letzten Mahlzeit	0,6600 g N = 0,01510 g	„ „ „ „
I. Nachperiode (10, 11) 12 Std., davon 10 wieder bei Nahrung	0,4823 g N = 0,01100 g	„ „ „ „
II. Nachperiode (12, 13) 12 Std., ganz bei Nahrung	0,2858 g N = 0,00653 g	„ „ „ „
Beide Nachperioden zusammen (10, 11, 12, 13) 24 Std., davon 22 wieder bei Nahrung . .	0,7681 g N = 0,00877 g	„ „ „ „

Während des Hungers zersetzt das Kind mehr N-Substanz als während der Ernährung. Die Acetonmenge ist minimal.

Versuch 13 (25. bis 30. IV.).

Alfred R., Journ.-Nr. 3946. (Siehe Versuch 10.)

Das Kind hat nach dem vorigen Versuche (10) wieder Vollmilch (800 g) + Brei (210 g) + Kompot (70 bis 120 g) bekommen; es sollte nicht zunehmen, sondern annähernd im Stoffgleichgewicht bleiben.

Gewicht: 25. IV. 6750 g
30. IV. 6480 g
2. V. 6580 g

Letzte Mahlzeit am 26. IV. um 9 Uhr früh; dann 7%ige Milchzuckerlösung, 1000 g pro Tag; von 9 Uhr früh am 28. IV. ab nur Saccharinwasser.

Wieder Nahrung am 29. IV. um 1 Uhr nachmittags.

Der Harn wurde von 7 Uhr abends am 25. IV. bis 7 Uhr abends am 30. V. in 6stündlichen Portionen aufgefangen.

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Aceton mg	β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
1. Von 7^h abds. 25. IV. bis 1^h nachts	80	974,4	—	—	
2. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	140	1361,9	—	—	
3. Von 7^h früh 26. IV. bis 1^h nachm.	155	845,25	—	—	
4. „ 1^h nachm. „ „ 7^h abds.	282	997,8	—	—	
5. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	165	485,1	—	—	
6. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	125	535,9	—	—	
7. Von 7^h früh 27. IV. bis 1^h nachm.	204	376,3	—	—	
8. „ 1^h nachm. „ „ 7^h abds.	210	236,2	—	37,4	

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Aceton mg	β-Oxybuttersäure mg	Bemerkungen
9. Von 7h abds. 27. IV. bis 1h nachts	240	369,6	—	—	
10. " 1h nachts " " 7h früh	175	281,2	—	—	
11. Von 7h früh 28. IV. bis 1h nachm.	200	298,8	2,1	20,2	
12. " 1h nachm. " " 7h abds.	135	299,5	11,7	24,9	
13. " 7h abds. " " 1h nachts	84	261,1	12,2	42,8	Kind hat zwisch. 10 u. 12h nachts geschrieen.
14. Von 1h nachts 28. IV. bis 7h früh	215	682,7	58,2	83,3	Kind hat zwisch. 4 u. 5h früh viel geschrieen.
15. " 7h früh 29. IV. " 1h nachm.	180	470,4	54,6	82,7	
16. Von 1h nachm. 29. IV. bis 7h abds.	160	—[1])	27,0	49,3	[1]) Bestimmung verunglückt.
17. " 7h abds. " " 1h nachts	60	501,5	3,1	—	
18. Von 1h nachts 29. IV. bis 7h früh	240	1115,5	3,5	11,1	
19. " 7h früh 30. IV. " 1h nachm.	240	677,0	—	20,7	
20. " 1h nachm. " " 7h abds.	170	601,2	6,9	33,3	

Kind sonst (s. oben) ruhig gewesen.

Resümee: Bei diesem Versuch sollte der Einfluß von Kohlenhydrat auf die N-Ausscheidung studiert werden. Nach einer Vorperiode erhält das Kind vom 26. IV. früh 9 Uhr an nur noch Milchzuckerlösung, und zwar bis zum 28. IV. früh um 5 Uhr, von da an nur noch Saccharin-Kochsalzlösung. Die Menge Milchzucker betrug 70 g pro die, also 287 Calorien (in 7%iger Lösung). Resultat:

I. Vorperiode 12 Std. (1, 2) .	2,3463 g N	= 0,02900 g pro Std. u. Kilogr.
II. 1. Milchzuckerper. 24 Std. (3, 4, 5, 6)	2,8640 g N	= 0,01800 g " " " "
III. 2. Milchzuckerper. 24 Std. (7, 8, 9, 10)	1,2633 g N	= 0,00779 g " " " "
IV. 1. Hungerperiode 18 Std. (11, 12, 13), 16 Std. absoluter Hunger	0,8594 g N	= 0,00707 g " " " "
V. 2. Hungerperiode 12 Std. (14, 15) 17. bis 28. Std. absoluten Hungers	1,3531 g N	= 0,01670 g " " " "
VI. 1. Nachperiode 12 Std. (16, 17)	—	—
VII. 2. Nachperiode 18 Std. (18, 19, 20)	2,3937 g N	= 0,01970 g " " " "

Bei der Verabreichung von Milchzucker sinkt der N-Verbrauch aus dem Körperbestand erheblich und eine Acetonausscheidug unterbleibt. (Siehe Fig. 5 auf S. 402.)

Versuch 14 (28. IV. bis 3. V.).

Heinrich S., Journ.-Nr. 3979.

Nach dem vorigen Versuche (12) hat das Kind Frauenmilch bekommen, bis 750 g pro Tag.

Letzte Mahlzeit am 29. IV. um 9 Uhr früh,
Wieder Nahrung „ 1. V. „ 1 „ nachmittags.
Gewicht: 28. IV. 3710 g
4. V. 3680 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachmittags am 28. IV. bis 7 Uhr abends am 3. V. in 6stündlichen Portionen aufgefangen.

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Aceton mg	β-Oxybuttersäure mg
1. Von 1^h nachm. 28. IV. bis 7^h abds.	60	87,4	—	—
2. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	30	39,5	—	—
3. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	68	115,8	—	—
4. Von 7^h früh 29. IV. bis 1^h nachm.	96	121,8	1,2	—
5. „ 1^h nachm. „ „ 7^h abds.	150	152,3	—	8,5
6. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	22	27,4	—	
7. Von 1^h nachts 29. IV. bis 7^h früh	67	151,0	—	18,2
8. „ 7^h früh 30. IV. „ 1^h nachm.	60	145,6	1,8	
9. „ 1^h nachm. „ „ 7^h abds.	106	179,9	3,2	
10. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	82	119,4	2,1	52,6
11. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	113	158,2	5,1	
12. „ 7^h früh 1. V. „ 1^h nachm.	161	240,7	18,7	46,9
13. Von 1^h nachm. 1. V. bis 7^h abds.	58	113,6	4,4	
14. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	130	187,5	—	20,7
15. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	105	162,8	—	
16. „ 7^h früh 2. V. „ 1^h nachm.	130	138,6	—	15,5
17. Von 1^h nachm. 2. V. bis 7^h abds.	70	83,2	—	—
18. „ 7^h abds. „ „ 1^h nachts	125	122,5	—	14,0
19. „ 1^h nachts „ „ 7^h früh	33	54,1	—	—
20. „ 7^h früh 3. V. „ 1^h nachm.	95	115,9	—	—
21. „ 1^h nachm. „ „ 7^h abds.	82	100,0	—	11,0

Kind während des Versuchs ruhig gewesen.

Resümee: Das gleiche Kind, das früher bei Kuhmilchernährung zum Versuche gedient hat, ist jetzt einige Tage mit Frauenmilch ernährt worden und hungert nun 52 Stunden.

I. Vorperiode (1, 2, 3) 18 Std., Frauenmilch . . . . 0,2427 g N = 0,00363 g pro Std. u. Kilogr.
II. 1. Hungerperiode (4, 5, 6) 18 Std., davon 16 Std. nach der letzten Nahrung . . . 0,3015 g N = 0,00451 g „ „ „ „
III. 2. Hungerperiode (7, 8, 9, 10, 11, 12) 36 Std., die 17. bis 52. Std. nach der Nahrung . 0,9928 g N = 0,00743 g „ „ „ „
IV. 1. Nachperiode (13, 14, 15, 16) 24 Std., beginnt nach der ersten Nahrungsaufnahme . 0,6025 g N = 0,00668 g „ „ „ „
V. 2. Nachperiode (17, 18, 19, 20, 21) 30 Stunden . . . . 0,4757 g N = 0,00424 g „ „ „ „

Man kann auch die Hungerperiode anders gruppieren:

1. Hungertag (4, 5, 6, 7) 24 Std., davon 22 Std. nach der Flasche . . . . 0,4525 g N = 0,00508 g pro Std. u. Kilogr.
2. Hungertag (8, 9, 10, 11) 24 Std. . . . . 0,6033 g N = 0,00677 g „ „ „ „
3. Hungertag (12) 6 Std. . . 0,2407 g N = 0,01081 g „ „ „ „

Das Kind reißt im Hunger mehr N-Substanz ein als bei Ernährung. In der 2. Nachperiode wird stark N retiniert.

Versuch 15 (5. bis 9. V.).

Alfred R., Journ.-Nr. 3946.

Nach dem vorigen Versuch (13) hat das Kind Vollmilch, Brei und Kompott so wie früher bekommen.

Letzte Mahlzeit am 6. V. um 5 Uhr früh; dann 7%ige Milchzuckerlösung und von 1 Uhr nachmittags am 7. V. nur Saccharinwasser.

Wieder Nahrung am 8. V. um 1 Uhr nachmittags.

Gewicht: 5. V. 6650 g
10. V. 6550 g

Der Harn wurde von 1 Uhr nachmittags am 7. V. bis 7 Uhr abends am 9. V. in 6stündlichen Portionen aufgefangen.

	Harnmenge ccm	N-Menge mg	Aceton mg	β-Oxybuttersäure mg
1. Von 1h nachm. 5. V. bis 7h abds.	110	946,4	—	11,5
2. „ 7h abds. „ „ 1h nachts	50	725,2	—	—
3. „ 1h nachts „ „ 7h früh	165	1296,6	—	13,2
4. Von 7h früh 6. V. bis 1h nachm.	207	711,9	—	13,8
5. „ 1h nachm. „ „ 7h abds.	355	808,5	4,5	11,7
6. Von 7h abds. 6. V. bis 1h nachts	83	409,0	1,2	—
7. „ 1h nachts „ „ 7h früh	120	697,8	4,7	12,4
8. „ 7h früh 7. V. „ 1h nachm.	238	729,6	1,9	19,0
9. Von 1h nachm. 7. V. bis 7h abds.	220	611,5	8,7	13,9
10. „ 7h abds. „ „ 1h nachts	137	427,7	7,6	13,1
11. „ 1h nachts „ „ 7h früh	103	526,9	22,3	45,2
12. „ 7h früh 8. V. „ 1h nachm.	284	723,5	91,1	121,4
13. Von 1h nachm. 8. V. bis 7h abds.	125	523,7	48,4	72,9
14. „ 7h abds. „ „ 1h nachts	107	708,6	4,7	20,3
15. „ 1h nachts „ „ 7h früh	205	1146,6	4,9	16,6
16. „ 7h früh 9. V. „ 1h nachm.	250	941,2	2,3	9,3
17. „ 1h nachm. „ „ 7h abds.	165	709,7	3,0	9,7

Kind ruhig gewesen.

Resümee: Das Kind bekommt eine Periode lang Zuckerwasser (nämlich 7%ige Milchzuckerlösung) eingelegt.

I. Vorperiode (1, 2, 3) 18 Std., gewöhnliche Ernährung . .	2,9682 g N = 0,02470 g pro Std. u. Kilogr.
II. 1. Milchzuckerperiode (4, 5) 12 Std. Die 3. bis 14. Std. bei Milchzucker	1,5204 g N = 0,01905 g " " " "
III. 2. Milchzuckerperiode (6, 7, 8) 18 Std. 15. bis 32. Std. bei Milchzuckerlösung . .	1,8364 g N = 0,01530 g " " " "
IV. Hungerperiode (9, 10, 11, 12) 24 Std.	2,2896 g N = 0,01440 g " " " "
V. Nachperiode (13, 14, 15, 16, 17) 30 Std., gewöhnl. Kost .	4,0298 g N = 0,02020 g " " " "

Der Acetongehalt des Harns schnellt in die Höhe mit Beginn des wirklichen Hungers. (Siehe Fig. 6 auf S. 403.)

Die Ergebnisse lassen sich in der folgenden Tabelle III (siehe Seite 378) besser übersehen. Wir teilen dabei die Versuche in die 10 ersten einleitenden (A), in die Versuche 11, 12, und 14 (B), die bereits umfassender sind, und stellen endlich 13 und 15 (C) zusammen, bei denen eine Periode der Ernährung mit Milchzuckerlösung eingeschoben ist, bei denen also absoluter Fett- und N-Hunger bestand, aber etwas Kohlehydrat in Gestalt von Milchzucker gereicht wurde.

Wie leicht ersichtlich ist, wurde die Versuchsanordnung häufig in irgendwelchen Momenten abgeändert. Im ganzen geht aus den Versuchen die Tendenz hervor, sie immer länger auszudehnen und immer mehr Wissenswertes zu ermitteln. Denn wir kamen bei der Beobachtung der Kinder und der Durchdenkung der erhaltenen Ergebnisse natürlich zu immer erweiterter Fragestellung, und es war uns ohne weiteres klar, daß noch längere, noch eingehendere und noch umfassendere Versuche nötig seien, um manche Frage zu klären. Aber auch diese ersten 15 Versuche ergeben doch schon viel Interessantes.

Es zeigt sich nämlich zunächst, daß auch auf Stunde und Kilogramm berechnet recht erhebliche Unterschiede zu vermerken sind. Diese Unterschiede zwischen den einzelnen Kindern finden sich nicht nur in den ersten 12 bis 18 Stunden nach der letzten Mahlzeit. Der Harn, der sich in dieser Zeit findet, spiegelt uns die Umsetzungen an N-haltiger Substanz wieder, die infolge der eingeführten Nahrung aufgetreten sind. Bei Verfütterung von Caseinmilch ist natürlich eine dem höheren N-Gehalt dieser Nahrung entsprechende Vermehrung des Harn-N zu erwarten, ebenso bei Verabreichung von Voll-

Tabelle III.

A.

Nummer des Versuchs	Alter d. Kindes Monate	Gewicht d. Kindes g	Vorausgehende Ernährung	N in g pro Stunde und Kilogramm in den ersten 18 Std.	zwischen 19. u. 48. Std.[1]	Nachperiode
1	3	3890	Frauenmilch	—	0,0067 (21—32)	—
2	5 1/2	5400	Caseinmilch	0,0201	0,0170 (19—30)	—
3	2	3490	Caseinmilch (600 g)	0,0176	0,0114 (19—24)	—
4	3	4170	Halbmilch (800 g = 400 g Milch)	0,0096	0,0110 (19—30)	—
5	2	3620	Frauenmilch (geringer Zusatz)	0,0059 (7—10)[1] 0,00776 (11—22)	0,0065 (23—34)	—
6 (cf. 3)	2	3400	Caseinmilch (700 g)	0,0171	0,0136 (19—30)	—
7	6 1/2	3720	Frauenmilch	0,0050 (5—10) 0,0100 (11—22)	0,0112 (23—34)	—
8	3 1/2	4780	Frauenmilch	0,00672 (5—10) 0,0048 (11—22)	0,00822 (23—34)	0,00724 (18)
9	8	4800	Caseinmilch	0,0179	0,0206 (23—30)	0,0234 (12)
10	9	6800	Vollmilch u. a.	— 0,0189 (3—22)	0,0162 (23—34)	—

B.

Nr. des Versuchs	Alter d. Kindes Monate	Gewicht d. Kindes g	Vorausgehende Ernährung	N in g pro Stunde und Kilogramm Vorperiode	in den ersten 24 Std.	zwischen 25. u. 48. Std.	nach d. 48. Std.	Nachperiode
11	3	2710	Frauenmilch	0,00335	0,00415 (1—22)	0,00703 (23—34)	—	0,0086 (24)
12	2	3650	Kuhmilch u. Nestle	0,0119 (34)	0,0116 (1—22)	0,0151 (23—34)	—	0,0088 (24)
14	dasselbe Kind wie in Versuch 12		Frauenmilch	0,00363 (18)	0,00508 (1—22)	0,00677 (23—46)	0,0108 (47—52)	0,00668 (24) 0,00424 (weitere 24 Std.)

C.

Nr. des Versuchs	Alter d. Kindes Monate	Gewicht d. Kindes g	Vorausgehende Ernährung	N in g pro Stunde und Kilogramm Vorperiode	I. Milchzuckerperiode	II. Milchzuckerperiode	I. Hungerperiode	II. Hungerperiode	I. Nachperiode	II. Nachperiode
13	9 (s. Vers. 10)	6480	Vollmilch	0,0218	0,00755 (1—10)	0,00803 (11—22)	0,00707 (23—40)	0,0167 (41—52)	—	0,0197 (18)
15	do.		do.	0,0247	0,0191 (3—14)	0,0153 (15—32)	0,0144 (33—46)	—		0,0202 (30)

[1]) Genauere Stundenangaben in Klammern beigefügt bei den N-Zahlen.

milch. Die Versuche 2, 3, 6, 9, 10 ergeben entsprechend hohe Werte, dagegen finden sich bei N-armer Nahrung in dieser Zeit auch geringe N-Werte im Harn. Das mit Frauenmilch genährte Kind in Versuch 8, ein Brustkind, hat bis zur 22. Stunde des Hungers nur 0,006 72 bzw. 0,0048 g N im Harn pro Kilogramm und Stunde, das ebenso schwere Kind in Versuch 9, das Caseinmilch erhielt, 0,0179 g N, also das 3 bis 4 fache. Ganz auffällig ist aber schon hier die Tatsache, daß bei den Brustkindern die N-Ausscheidung im weiteren Hunger steigt, während sie im allgemeinen fällt. Auch Rubner und Heubners[1]) Brustkind schied am Hungertage mehr N im Urin aus als während der Ernährung, nämlich bei der Ernährung 0,0048 g N pro Stunde und Kilogramm, beim Hunger 0,005 04 g. Allerdings ist die Differenz sehr klein. Aber schon bei den länger durchgeführten Versuchen von Amberg und Morril[2]) zeigt sich, daß die N-Ausscheidung im Harn im absoluten Hunger größer ist als während mancher Ernährungsperiode. So scheidet dieses Versuchskind in der 19. bis 66. Stunde des Hungerns 1,0119 g N im Harn aus gegen 0,8176 oder gar 0,5141 bzw. 0,5191 g N in späteren Perioden mit verringerter N-Zufuhr, obgleich in dieser letzten Periode ein N-Ansatz statthatte. Die beiden Autoren kamen daher direkt zu dem Schlußsatz, daß die Größe des notwendigen Eiweißminimums auch beim Säugling bei zweckmäßiger Zusammensetzung der Nahrung niedriger ist als die Eiweißquantität, die vom Organismus im Hunger zersetzt wird. So sehen wir in Fall 11 und Fall 14 die N-Ausscheidung bei Frauenmilch mit 0,003 35 bis 0,003 63, beim Hunger mit 0,004 15 beginnen und bis 0,007, also aufs Doppelte, ansteigen. Am instruktivsten ist Fall 14. Hier sehen wir:

	N-Gehalt des Urins pro Std. u. kg
Bei Ernährung mit Frauenmilch .	0,00363 g
Am 1. Hungertage	0,0051 „
„ 2. „	0,0068 „
„ 3. „	0,0108 „
„ 1. Tage nach dem Hungern . .	0,0067 „
„ 2. „ „ „ „ . .	0,0042 „

[1]) a. a. O. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie 1, 1 ff.
[2]) a. a. O. Jahrb. f. Kinderheilk. 69, 280.

Nun haben wir das gleiche Kind aber auch kurz vorher bei Kuhmilchernährung mit Nestlezusatz untersucht. Es erhielt in dieser Zeit 300 g Kuhmilch + 300 g Wasser und 30 g Nestlemehl, das ihm vorher von seiner Mutter verabreicht war und das wir zunächst beibehielten, um den Versuch rasch beginnen zu können. Das Kind schied aus:

	N pro Std. u. kg
Vorperiode	0,0119 g
1. Hungertag	0,0160 "
2. Hungertag	0,0151 "
Nachperiode	0,0080 "

In der Nachperiode war offenbar eine starke N-Retention, um den Verlust wieder einzubringen. Auch war diese Periode zu kurz (24 Stunden), um etwas zu besagen. Nun können wir ungefähr die N-Aufnahme bei Frauenmilch und bei der Nestlemilch pro Tag bestimmen, da die quantitativen Verhältnisse bekannt sind. Danach hat das Kind in der

Frauenmilchperiode . . . 1,60 g N pro Tag
Nestle-Kuhmilchperiode . . 1,75 " " " "

erhalten. Da sicherlich im Stuhle in der Nestleperiode mehr N war als in der Frauenmilchperiode, so dürfte die Resorption ziemlich gleichgroß gewesen sein. Trotzdem wird bei Frauenmilch nur $^1/_3$ soviel N im Harn ausgeschieden. Aber selbst am 3. Tage des Hungerns nach Frauenmilch ist die N-Ausscheidung noch nicht so groß, wie bei der Ernährung mit Nestle-Kuhmilch. In der 25. bis 48. Stunde müßte doch der Unterschied zwischen den Versuchen nach naheliegender Auffassung ausgeglichen sein. Trotzdem scheidet das Kind nach der Nestle-Kuhmilchnahrung auch in dieser Frist noch doppelt soviel N aus als nach der Frauenmilchnahrung.

Es spielt die vorangegangene Ernährung selbstverständlich in den Abbau von Körpersubstanz hinein, auch in der Zeit, in der die Verdauung und Resorption der letzten Nahrung vollendet ist. Ähnlich wie wir das kürzlich[1]) für den Hund gezeigt haben und wie sich schon aus den respiratorischen Quotienten ergab, die wir bei Säuglingen in früheren Arbeiten ermittelt haben, beeinflußt die Art des Aufbaues eines Organismus seinen Abbau im Hunger. Es findet eine Gewöhnung, eine Anpassung

[1]) Schloßmann und Murschhauser, diese Zeitschr. 53, 265.

in der einen oder anderen Richtung statt. Trotzdem will es scheinen, als ob das mit Frauenmilch genährte Kind seinen Körper-N fester hält als das mit Kuhmilch gefütterte. Man könnte daran denken, daß die zerschlagenen Stücke des Kuhmilcheiweiß in größerer Menge in Saft und Zellen des kindlichen Körpers sich finden, wo sie der Metamorphose in Menscheneiweiß entgegengeführt werden, daß dagegen das Menscheneiweiß der Frauenmilch viel rascher in dauernden Körperbestand übergeht und dann schwerer wieder angreifbar ist. Daß Kuhmilcheiweiß im Darme ebenso gut abgedaut und resorbiert wird wie Frauenmilcheiweiß, wissen wir. Dagegen könnte der doch nun einmal nicht zu leugnende Unterschied in den Ernährungsresultaten auf einem rascher erfolgenden, wirklichen Ansatz der aus Frauenmilch stammenden Eiweißabbauprodukte beruhen.

Nicht in Erstaunen setzen kann uns die Tatsache, daß das Brustkind im Hunger mehr Eiweiß zersetzt als während der Nahrungsdarreichung. Bei der natürlichen Ernährung lebt das Kind eben von Fett und Kohlenhydrat, und die Eiweißmengen sind minimal. Vom Lactivoren wird das Kind im Hunger zum Pädivoren, gewissermaßen zum Fleischfresser umgestempelt. Es deckt dann, besonders wenn die Glykogenvorräte erheblich abnehmen, seinen Umsatz durch erhöhte Eiweißverbrennung.

Um nun weiter in die Frage des Stoffwechsels im Hunger einzudringen, wurden weitere, und zwar noch umfassendere Versuche angestellt, über die zunächst berichtet werden soll.

Als Objekt dient wieder im Versuch 16 Johann A., Journ.-Nr. 3959, der bereits in Versuch 11 untersucht worden war. Die anamnestischen Daten finden sich dort Seite 371.

Der neue Versuch begann am 1. Juli, doch war bereits vom 27. Juni an die verabreichte Nahrung, nämlich Frauenmilch, in bezug auf N-Gehalt und Fett analysiert worden, um einen besseren Überblick über die Stoffaufnahme des Kindes zu haben. Vom 1. Juli abends bis 3. Juli abends wurde der Urin gesammelt, und zwar in 12stündigen Mengen. Die Flasche, in die der Urin fließt, steht in einem Gefäß mit Eiswasser; unmittelbar nach Wechsel der Flasche wurden die chemischen Untersuchungen eingeleitet. Vom 3. Juli abends 7 Uhr bis 6. Juli morgens, also 60 Stunden, trinkt das Kind nur mit Saccharin gesüßtes Wasser mit 3 $^0/_{00}$ NaCl. Am 6. Juli morgens beginnt die Ernährung wieder, und zwar mit Frauenmilch. Die Nachperiode, in der die

Nahrung weiter untersucht wird, dauert bis 8. Juli morgens, also wieder 60 Stunden. Über die Einnahmen und Ausgaben gibt Tabelle IV und V Aufschluß.

Tabelle IV.
Versuch 16.

Nummer	Datum	Zeit	Nahrung Menge ccm	Nahrung N g	Nahrung Fett g	Harn Menge ccm	Harn N g	Harn Aceton mg	Harn β-Oxybuttersäure mg
1	1.–2. Juli	7h abds. bis 7h früh	700	1,3583	37,1	126	0,1599	2,117	—
2	2. „	7h früh „ 7h abds.				258	0,2295	1,070	29,28
3	2.–3. „	7h abds. „ 7h früh	650	1,1718	36,73	128	0,1695	0,448	—
4	3. „	7h früh „ 7h abds.				270	0,2390	1,542	20,69
5	3.–4. Juli	7h abds. bis 7h früh	700	—	—	215	0,1815	0,227	23,92
6	4. „	7h früh „ 7h abds.				108	0,2749	9,655	—
7	4.–5. „	7h abds. „ 7h früh	700	—	—	207	0,3630	14,72	23,17
8	5. „	7h früh „ 7h abds.				237	0,2814	20,63	23,95
9	5.–6. „	7h abds. „ 7h früh	280	—	—	147	0,3036	11,95	17,24
10	6. Juli	7h früh bis 7h abds.	360	0,6161	21,24	180	0,3440	13,68	31,70
11	6.–7. „	7h abds. „ 7h früh	630	1,0473	39,06	210	0,3068	10,67	22,82
12	7. „	7h früh „ 7h abds.				305	0,2226	1,26	18,53
13	7.–8. „	7h abds. „ 7h früh	280	0,4599	18,2	205	0,1957	0,217	21,14

Tabelle V.
Versuch 16.
Nach Tagen zusammengezogen ergibt sich:

	Das Kind erhielt bzw. schied aus: Nahrung Menge ccm	Nahrung N g	Nahrung Fett g	Urin Menge ccm	Urin N g	Pro kg und Std.: Nahrung N g	Urin N g
Vorperiode . . . . . 1. Tag	700	1,274	42,0	—	—	0,0157	—
„ . . . . . 2. „	700	1,358	37,1	384	0,3894	0,0166	0,00476
„ . . . . . 3. „	650	1,172	36,7	398	0,4085	0,0143	0,00499
Hungertag . . . . . 1. „	700	—	—	323	0,4564	—	0,00554
„ . . . . . 2. „	700	—	—	437	0,6444	—	0,00787
„ . . . . . 3. „	280	—	—	147	0,3036	—	0,00742
„ . . (nur 12 Std.)					(12 Std.)		
Nachperiode . . . . 1. Tag	640	1,082	38,6	390	0,6508	0,0132	0,00795
„ . . . . 2. „	630	1,042	39,9	510	0,4183	0,0127	0,00470

Man kann die Hungerperiode auch so berechnen, daß die ersten 12 Stunden nicht gerechnet werden und der eigentliche Hunger mit der 13. Stunde beginnt, dann ergibt sich als

1. Hungertag (13. bis 36. Std.)	700	—	—	315	0,6379	—	0,00779
2. „ (37. „ 60. „)	700	—	—	384	0,5840	—	0,00713

Das Gewicht des Kindes betrug am 30. Juni 3410 g, am 8. Juli 3600 g. In den vorangehenden Wochen war trotz genügender Frauenmilchzufuhr (700 bis 800 g und mehr pro Tag) und gutem Stuhle (1—2mal täglich) eine minimale Zunahme (300 g in 30 Tagen). Nach dem Versuch ging ein namhafter Teil der jetzt angesetzten 190 g in den folgenden 5 Tagen wieder verloren, ein Beweis, daß es sich um eine starke Wasserretention gehandelt hat. In der Tat machte sich die Wasserzurückhaltung direkt bemerkbar durch geringe, aber deutlich sichtbare Ödeme. Zuerst konnte man am 5. abends eine Spannung der Haut im Gesicht feststellen, am 6. früh, also am Ende des Hungern, waren die Ödeme auf Handrücken, Füße und Unterschenkel ausgedehnt. Sie gingen am 7. u. 8. Juli zurück, und am 9. Juli war nichts mehr zu bemerken. Warum das Kind so stark Wasser zurückgehalten hat, ist nicht recht klar. Allerdings gehört es zu denjenigen Individuen, bei denen die Wasserbilanz leicht in Unordnung gerät; auch bei der Aufnahme und in der ersten Zeit der klinischen Behandlung waren zeitweise leichte Ödeme vorhanden. Dabei war der Stuhl auch im Hunger wässerig. Auf die 60 Stunden Hunger kommen 5 wasserreiche, schleimige Hungerstühle. Die Wasseraufnahme und die Ausscheidung durch die Nieren ergibt folgendes:

Tabelle VI.

		aufgen. Flüssigkeit	Harn	
1. Vorperiode	48 Std.	1360 ccm	782 ccm	= 58,0 %
2. I. Hungerperiode	24 „	700 „	323 „	= 46,1 %
3. II. „	36 „	980 „	591 „	= 60,3 %
4. Ganze Hungerzeit	60 „	1680 „	914 „	= 54,4 %
5. Nachperiode	48 „	1270 „	900 „	= 70,9 %

Während der ganzen Hungerzeit war also die Flüssigkeitsausscheidung durch den Harn 54,4 % der aufgenommenen, vorher 58 % und nachher als weiteres Zeichen für die stattgehabte Retention 70,9 %.

Was die N-Ausscheidung anbelangt, so sehen wir wieder die Erscheinung, daß diese im Hunger steigt. Auch in diesem Falle zeigt es sich wiederum, daß das Kind an der Brust sparsamer mit N versorgt wird und bei Frauenmilchernährung sparsamer mit diesem N umgeht als im Hunger. Hier handelt es sich um ein mageres Kind, das nur geringen Ansatz gehabt hatte und dem daher wenig Glykogen und Fett zur Verfügung stand, sobald die Nahrung sistierte. Daher wurde das Eiweiß sofort stark angegriffen. Am 2. Tage der Nachperiode hat sich übrigens der N-Stoffwechsel wieder völlig reguliert die Ausscheidung entspricht ganz der in der Vorperiode.

Alles Nähere ist aus obigen Tabellen IV und V zu ersehen. Gegenüber dem vorhergehenden Versuche (Nr. 11) mit dem gleichen Kinde hat sich wenig verändert. Jetzt scheidet das Kind bei der Ernährung etwas

mehr N aus (0,0048 gegen 0,0034), infolgedessen auch im Hunger entsprechend mehr, nämlich 0,0055 am ersten und 0,0079 am 2. Tage gegenüber 0,0042 und 0,0070 im früheren Versuche. Die Rückkehr zu normalen Verhältnissen geht sehr rasch vonstatten. Am 2. Tage nach Beendigung des Versuches ist die N-Ausscheidung nur um Spuren geringer als in der Vorperiode.

Die nächsten drei Versuche (17, 18 und 19) sind wieder mit einem unnatürlich genährten Kinde angestellt, das sich als ein ganz besonders gut geeignetes Objekt erwies. Es handelt sich um dasselbe Kind, das schon bei Versuch 5 untersucht worden war. Damals hatte das Kind fast nur Frauenmilch mit ganz geringer Zulage von Buttermilch erhalten. Es erhält vom 10. Juni ab $^2/_3$ Milchwassermischung. Gewicht an diesem Tage 4360 g. Zunächst bekommt es 700 g von der Mischung, dann 800 g, doch nimmt es nicht zu, weil die Calorienmenge sehr gering ist (ca. 490 Cal. pro Tag). Am 19. Juni ist das Gewicht immer noch 4360 g. Nunmehr beginnt der neue Versuch (17), und zwar am 21. Juni früh die Vorperiode (36 Std.), am 22. abends der Hunger (48 Std.) und am 25. Juni abends die Nachperiode wieder mit derselben Nahrung wie in der Vorperiode (60 Std.). Auskunft gibt Tabelle VII und VIII.

Tabelle VII.

Nahrung: 2 Teile Kuhmilch, 1 Teil Wasser, 50 g Nährzucker pro Liter Mischung, 800 ccm pro Tag; enthaltend im Durchschnitt 2% Fett, 0,331% N und 8,0% Zucker = 600 Cal.

Gewicht des Kindes 19. VI.: 4350 g, 24. VI. 4370 g.

Nummer	Datum	Zeit	Dauer	Nahrung				Harn			
				Menge	N	Fett	Zucker	Menge	N	Aceton	β-Oxybuttersäure
			Std.	ccm	g	g	g	ccm	g	mg	mg
1	21. VI.	7h früh bis 7h abds.	12	800	2,648	16,0	64,0	255	0,8127	5,800	24,70
2	21.–22. "	7h abds. " 7h früh	12					330	1,1312	3,215	
3	22. "	7h früh " 7h abds.	12	480	1,588	9,6	38,4	250	0,7729	1,960	8,52
4	22.–23. VI.	7h abds. bis 7h früh	12	800				305	0,8163	1,494	5,72
5	23. "	7h früh " 7h abds.	12					218	0,6707	9,890	19,22
6	23.–24. "	7h abds. " 7h früh	12	800	—	—	—	256	0,7572	24,770	25,61
7	24. "	7h früh " 1h mitt.	6					106	0,3039	28,170	33,13
8	24. "	1h mitt. " 7h abds.	6					122	0,3092		
9	24.–25. VI.	7h abds. bis 7h früh	12	800	2,648	16,0	64,0	224	0,7886	17,340	24,00
10	25. "	7h früh " 7h abds.	12					348	0,7631	2,480	20,40
11	25.–26. "	7h abds. " 7h früh	12	800	2,648	16,0	64,0	243	0,6940	1,600	14,95
12	26. "	7h früh " 7h abds.	12					322	0,6722	2,150	12,00
13	26.–27. "	7h abds. " 7h früh	12	320	1,0592	6,4	25,6	230	0,6282	1,210	9,18

Tabelle VIII.
Übersicht über Versuch 17.

	Dauer	In der Nahrung				Im Harn		Pro kg u. Stunde	
		Menge	N	Fett	Zucker	Menge	N	N der Nahrung	N des Harns
	Std.	ccm	g	g	g	ccm	g	g	g
Vorperiode	36	1280	4,236	25,6	102,4	835	2,7168	0,02705	0,0173
1. Hungertag	24	800	—	—	—	623	1,4870	—	0,0143
2. „	24	800	—	—	—	484	1,3703	—	0,0131
Nachperiode, 1. Tag	24	800	2,648	16,0	64,0	572	1,5517	0,0253	0,0148
„ 2. „	24	800	2,648	16,0	64,0	665	1,3662	0,0253	0,0131
„ 3. „ (12 Stunden)	12	320	1,0592	6,4	25,6	230	0,6282	0,0203	0,0120
oder:									
Vorperiode	36	1280	4,236	25,6	102,4	835	2,7168	0,02705	0,0173
Hunger	48	1600	—	—	—	1007	2,8573	—	0,0136
Nachperiode	60	1920	6,355	38,4	153,6	1367	3,5461	0,0244	0,0136

Das Kind hatte den Hunger ausgezeichnet vertragen; es war selbst am Schlusse des Versuchs durchaus nichts von Schlaffheit oder Müdigkeit wahrzunehmen. Ödeme waren nicht zu bemerken. Eine gewisse Wasserretention hat jedoch offenbar während des Hungerns auch hier stattgehabt. In der Vorperiode betrug das Verhältnis der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge zur Urinmenge 67,7 %, während des 48 stündigen Hungerns 62,9 %, in der Nachperiode 71,2 % (siehe Tabelle IX). Aus der Wasserretention erklärt sich das Gleichbleiben des Gewichts. Das Gewicht ist während des Versuchs nicht gefallen. Das Körpergewicht bleibt aber auch die Tage nach dem Versuche gleich. Es vollzog sich offenbar dann wieder der Ausgleich zwischen Wasserabgabe und Körperansatz. Der Stickstoffgehalt des Urins, der während der Ernährung jetzt beträchtlich höher war als bei der Ernährung mit Frauenmilch — Versuch 5 — sinkt von 0,017 in der Vorperiode auf 0,014 am 1. Hungertage und 0,013 am 2. Hungertage. In der ganzen Nachperiode bleibt der Stickstoffgehalt des Harns niedrig, offenbar, weil eine starke Retention statthatte.

Tabelle IX.
Versuch 17.

Die Wasserabgabe verhielt sich folgendermaßen:

	Dauer Std.	Flüssigkeit ccm	Urin ccm	Urin % der aufgen. Flüssigkeit
Vorperiode	36	1280	835	67,7
Hunger	48	1600	1007	62,9
Nachperiode	60	1920	1367	71,2

6 Tage nach Beendigung von Versuch 17, und zwar am 30. VI., wiegt das Kind 4380 g. Es wurde nunmehr eine calorienreichere Nahrung zugeführt, nämlich eine Mischung von Buttermilch mit Sahne, unter Zusatz von Mehl und Zucker. Die Mischung enthält pro Liter 800 Cal. Das Kind bekommt täglich 800 ccm, also 640 Cal. Die Zubereitung ist derartig, daß zu $^3/_4$ l Buttermilch, $^1/_4$ l Sahne, 15 g Weizenmehl und 40 g Rohzucker zugefügt werden. Bei einem Gewicht von 4400 g bedeuten 640 Cal. pro Tag rund 140 Cal. pro Kilogramm. Die Ernährung ist also nunmehr eine sehr reichliche. Innerhalb 3 Tagen wird das Kind an die neue Nahrung gewöhnt, indem jeden Tag ein Teil der alten Nahrung durch die neue ersetzt wird. Als so das Kind auf die reichlichere Ernährung gebracht war, wurde es 7 weitere Tage beobachtet. Am 8. VI. beträgt das Gewicht 4720 g. Es hat also ein erheblicher Gewichtsansatz in kurzer Zeit stattgefunden.

Es wird nunmehr der Versuch 18 vorgenommen, dessen Vorperiode am 7. VII. abends beginnt.

Tabelle X.

Wasserausscheidung in Versuch 18.

	Dauer Std.	Flüssigkeit ccm	Harn ccm	Harn %
Vorperiode	48	1600	925	58,0
Hungerzeit	60	1760	1412	80,3
Nachperiode	48	1600	1141	71,3
Für die einzelnen Tage:				
Vorperiode, 1. Tag . . .	24	800	463	58,1
" 2. " . . .	24	800	462	58,0
Hunger, 1. Tag	24	800	477	59,6
" 2. u. 3. Tag . . .	36	960	935	97,2
Nachperiode, 1. Tag . .	24	800	643	80,4
" 2. " . .	24	800	498	62,2

Die Vorperiode dauert 48 Stunden. Dann folgt eine 60stündige Nahrungskarenz und eine Nachperiode von abermals 48 Stunden. Das Kind verträgt die Inanition ausgezeichnet. Es ist am Schlusse des Versuchs vollkommen munter, lustig und vergnügt. Es lacht, wenn man an sein Bett tritt, und zeigt ein absolut normales Verhalten. Das einzige, was an dem Kinde von der Norm abweichendes beobachtet wurde, waren am 11. VII. abends, also nach 48stündiger Nahrungskarenz, Spuren von Ödem am Fuße. Am 12. VII., nachdem das Kind die ersten Flaschen wieder getrunken hat, ist das Ödem vielleicht eben noch nachweisbar, am 13. VII. vollkommen verschwunden. Der Grund des Ödems ist offenbar darin zu suchen, daß infolge des Salzgehalts von 0,3%, also bei einer Chlornatriumverabreichung von 2,4 g pro die, eine Wasserretention statthatte. In der Vorperiode (siehe Tabelle X) hatte das Kind regelmäßig 58% Wasser ausgeschieden. Am 2. bis 3. Hungertage, also von der 25. bis 60. Stunde, steigt die Wasserausscheidung auf 97,2% der zugeführten

Flüssigkeitsmenge. Am 1. Tage der Nachperiode ist die Harnmenge noch 80,4 % der gereichten Flüssigkeit. Am 2. Tage der Nachperiode sind wir wieder bei annähernd normalen Verhältnissen.

In den letzten 12 Stunden des Hungerns setzt eine mächtige Diurese ein, die den Prozentsatz von Harnmenge zur Flüssigkeitsaufnahme mächtig anschwellen läßt. Auch am 1. Tage der Nachperiode hält die starke Wasserabgabe an, doch sind am nächsten Tage schon wieder annähernd normale Verhältnisse.

Das Gewicht des Kindes hat sich während des ganzen Versuchs nicht vermindert, sondern etwas vermehrt. Am 8. VII. wiegt das Kind 4730 g, am 9. VII. 4740 g, am 12. VII. 4800 g, am 14. VII. 4810 g, am 17. VII. 4900 g, am 19. VII. 4970 g. Vom 9. VII. bis zum 19. VII. hat eine Gewichtszunahme von über 200 g stattgehabt, trotz des eingeschobenen 60 stündigen Fastens. Aus der Fig. 1 ist ersichtlich, wie das Kind allmählich sein Wasser wieder ausgeschieden und durch Körpersubstanz ergänzt hat. Auch zeigt die Fig. 1 deutlich, daß die eingeschobenen Fasttage das vorzügliche Gedeihen des Kindes im ganzen nicht beeinflußt haben.

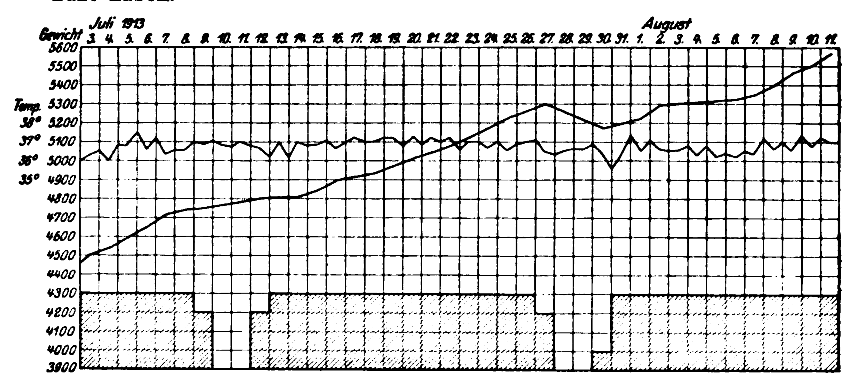


Fig. 1. Heinrich G. Geb. am 11. II. 1913. Aufgen. am 20. II. 1913.

Fragen wir nun, wie es kommt, daß eine Wasserretention trotz der erheblichen Diurese stattgehabt hat, so ist dabei folgendes zu berücksichtigen:

Erstens wird in der Vorperiode die Flüssigkeitsmenge der Nahrung zur Harnmenge in ein Verhältnis gebracht. In der Tat sind aber in den 1600 ccm Flüssigkeit, die das Kind erhalten hat, ca. 260 g feste Substanz; die Flüssigkeit beträgt also nicht 1600 ccm, sondern nur 1340 ccm. Während der Inanitionsperiode hat aber das Kind pro Tag wirklich 800 g Flüssigkeit bekommen.

Zweitens verhält sich das Kind am 2. und 3. Hungertage wohl zweifellos etwas ruhiger als in der Vorperiode. Mit der Erschöpfung des Glykogenvorrats läßt, darüber haben uns andere Untersuchungen Aufschluß gegeben, die Beweglichkeit des Kindes etwas nach. Mit der ver-

minderten Beweglichkeit und der größeren Ruhe geht eine Verringerung der Atmungsfrequenz und damit eine Verminderung der Wasserabgabe durch die Lungen einher. In der zweiten Hälfte des Hungerns wird also mehr Wasser durch den Harn und weniger Wasser durch die Atmung ausgeschieden. Ebenso sinkt, wenn auch um ein ganz Geringes, die Temperatur der Haut mit dem Andauern des Hungerns, und auch damit die Wasserabgabe durch Verdunstung. Endlich fällt die Wasserabgabe durch den Stuhl fort oder wird wenigstens wesentlich vermindert. Gerade während des Versuchs 18 hatte das Kind nur einmal eine ganz kleine Spur von Hungerstuhl, also so gut wie gar keine Wasserabgabe vom Darme aus.

Tabelle XI.

Versuch 18.

Nummer	Datum	Zeit	Dauer	Nahrung				Harn		
				Menge	N	Fett	Kohlenhydrat	Menge	N	Aceton
			Std.	ccm	g	g	g	ccm	g	mg
1	7.– 8. VII.	7h abds. bis 7h früh	12	800	3,920	24,0	76	208	1,1997	1,102
2	8. „	7h früh „ 7h abds.	12					255	1,3530	0,927
3	8.– 9. „	7h abds. „ 7h früh	12	800	4,656	31,2	76	222	1,6083	0,257
4	9. „	7h früh „ 7h abds.	12					240	1,5229	0,836
5	9.–10. VII.	7h abds. bis 8h früh	12	800	—	—	—	120	1,0612	0,574
6	10. „	7h früh „ 7h abds.	12					357	1,2619	42,000
7	10.–11. „	7h abds. „ 7h früh	12	800	—	—	—	352	0,9717	33,570
8	11. „	7h früh „ 7h abds.	12					292	0,5826	37,100
9	11. „	7h abds. „ 10h abds.	3	160	—	—	—	120	0,3672	30,390
10	11.–12. „	10h abds. „ 7h früh	9					171	0,5096	27,310
11	12. VII.	7h früh bis 7h abds.	12	800	4,338	21,6	76	305	0,8688	25,380
12	12.–13. „	7h abds. „ 7h früh	12					338	1,0876	1,038
13	13. „	7h früh „ 7h abds.	12	800	4,1056	17,6	76	260	0,9593	1,218
14	13.–14. „	7h abds. „ 7h früh	12					238	1,5067	0,062

Auf der anderen Seite wird ja während der Ernährung aus der gereichten Nahrung, und besonders aus der kohlenhydratreichen Nahrung, die wir hier verabfolgten, eine nicht unerhebliche Menge Wasser gebildet. Das wird aber aufgehoben dadurch, daß im Hunger aus der zersetzten Körpersubstanz Wasser gebildet wurde, und außerdem noch das Quellwasser, vor allem des zersetzten Glykogens und des Eiweißes, zur Ausscheidung, bezüglich zur ödematösen Durchtränkung der Gewebe hinzukommt.

Die Eiweißzersetzungsverhältnisse sind nunmehr allerdings wesentlich andere als in den beiden vorhergehenden Versuchen. In Versuch 5 war das Kind fast ganz auf Frauenmilch angewiesen; es schied während der Verdauung 0,006 g N, am Schluß der Verdauung 0,008 g N und am 2. Hungertage 0,0065 g N aus. Bei der knappen Ernährung mit $^{2}/_{3}$ Milch

war die N-Ausscheidung 0,0173 g N pro Kilogramm und Stunde, jetzt bei der reichlichen Ernährung 0,025 g N. Während der Ernährung mit Frauenmilch war die N-Auscheidung am 2. Hungertage höher als bei der Ernährung. Jetzt bei der reichlichen Darbietung von Stickstoff ist am 2. Hungertage die N-Ausscheidung etwa auf die Hälfte heruntergegangen und beträgt 0,013 g N pro Kilogramm und Stunde. Genau so, wie bei der Ernährung mit wenig Stickstoff in Versuch 17 in der Nachperiode, bleibt diesmal auch am 2. Hungertage die N-Ausscheidung ganz wesentlich hinter der Vorperiode zurück, allerdings auch bei etwas geringerer N-Aufnahme. Es unterliegt aber keinem Zweifel, daß das Kind jetzt in beträchtlichem Maße N an sich gerissen hat. Die genauen Daten ergeben sich ohne weiteres durch Betrachtung von Tabelle XI und XII.

Die Nahrung bestand aus Buttermilch, der Sahne, Mehl und Rohrzucker zugesetzt ist. Sie hat rund 800 Cal. pro Liter, wenn 3% Eiweiß, 9,5% Kohlenhydrat und 3% Fett zugrunde gelegt werden. Schwankend ist der Fettgehalt, da dieser von der zugesetzten Sahne abhängt. Das Gewicht des Kindes war 4740 g.

Tabelle XII.

Übersicht über Versuch 18.

	Dauer	In der Nahrung				Im Harn		Pro kg u. Stunde	
		Menge	N	Fett	Kohlenhydrat	Menge	N	N der Nahrung	N des Harns
	Std.	ccm	g	g	g	ccm	g	g	g
Vorperiode	48	1600	8,5760	55,2	152	925	5,6840	0,0377	0,0249
1. Hungertag	24	800	—	—	—	477	2,3241	—	0,02161
2. "	24	800	—	—	—	644	1,4743	—	0,01290
3. "	12	160	—	—	—	291	0,8768	—	0,01540
Nachperiode, 1. Tag	24	800	4,3380	21,6	76	643	1,9564	0,0380	0,0180
" 2. "	24	800	4,1056	17,6	76	498	2,4610	0,0319	0,0216
oder:									
Vorperiode	48	1600	8,5760	55,2	152	925	5,6840	0,0377	0,2490
Hunger	60	1760	—	—	—	1412	4,6752	—	0,0167
Nachperiode	48	1600	8,4436	39,2	152	1141	4,4174	0,0333	0,0194

Am 25. VII. wog das Kind 5220 g, am 27. VII. 5300 g. In diese Zeit fällt der Versuch 19. Er begann am 25. VII. abends mit einer 48stündigen Vorperiode, die bis zum 27. VII. abends ging. Vom 27. VII. abends um 7 Uhr bis zum 30. VII. abends um 11 Uhr kommt eine 76stündige Inanitionsperiode, in der das Kind wiederum nur Wasser mit 0,3% Salz und Saccharin aufnimmt. Dieser Versuch ist mit ganz besonderen Kautelen vorgenommen worden, und hier zeigt sich besonders deutlich das, was auch schon bei den vorangehenden Versuchen festgestellt werden konnte. Das Kind merkte überhaupt nichts davon, daß es statt der Nahrung eine Pseudonahrung bekam.

Tabelle XIII.

Wasserbilanz für Versuch 19.

	Aufgenommene Flüssigkeit ccm	Harn g	Harn %
Vorperiode	1600	716	44,8
Hunger, I. Teil, 36 Std. .	1120	912	81,4
„ II. „ 40 „ .	1280	1076	84,0
„ im ganzen 76 Std.	2400	1984	82,8
Nachperiode 1. bis 20. Std.	800	472	59,0
„ 21. bis 140. Std.	4000	2363	59,1

Tabelle XIV.

Versuch 19.

Nummer	Datum	Zeit	Dauer Std.	In der Nahrung: Menge ccm	In der Nahrung: N g	In der Nahrung: Fett g	In der Nahrung: Kohlenhydrat g	Im Harn: Menge ccm	Im Harn: N g	Im Harn: Aceton mg	Im Harn: β-Oxybuttersäure mg
1	25./26. VII.	A–F[1]	12	800	4,0776	34,20	76,0	130	1,558	1,305	—
2	26. „	F–A[2]	12					220	1,297	1,276	—
3	26./27. „	A–F	12	800	4,2569	32,80	76,0	153	1,413	1,262	22,5
4	27. „	F–A	12					213	1,513	1,351	19,4
5	27./28. VII.	A–F	12	320	—	—	—	190	1,361	0,813	14,70
6	28. VII. früh 7 bis mitt. 1		6	160	—	—	—	172	0,408	2,051	—
7	28. VII. mitt. 1 „ 29. fr. 7		18	640	—	—	—	550	1,585	71,50	93,86
8	29. „ früh 7 „ 30. „ 7		24	800	—	—	—	564	1,478	117,78	187,70
9	30. „ „ 7 „ abds. 11		16	480	—	—	—	512	1,265	101,88	107,70
10	30. VII. abds. 11 bis 31. VII. fr. 7		8	320	0,9885	13,12	30,4	170	0,6173	24,64	—
11	31. VII.	F–A	12	800	2,471	32,80	76,0	302	1,363	5,603	19,67
12	31. VII. bis 1. VIII.	A–F	12					280	0,536	2,175	16,64
13	1. VIII.	F–A	12	800	3,7612	29,60	76,0	236	0,546	0,93	—
14	1./2. „	A–F	12					160	0,948	0,748	—
15	2. „	F–A	12	800	3,8718	31,04	76,0	330	1,499	2,321	47,32
16	2./3. „	A–F	12					230	1,420		
17	3. „	F–A	12	800	4,007	30,00	76,0	240	1,352	1,907	42,48
18	3./4. „	A–F	12					185	1,296		
19	4. „	F–A	12	800	4,054	29,60	76,0	262	1,363	1,980	35,71
20	4./5. „	A–F	12					210	1,479		
21	5. „	F–A	12	480	2,433	17,76	45,6	230	1,301	1,087	15,91

Es war bis zum Schluß vergnügt und munter. Während des ganzen Versuches war die Temperatur $^1/_2{}^0$ unter den Werten, die sonst beobachtet wurden. Am Ende des Versuches zeigte die Temperatur

[1]) A–F = abends 7 bis früh 7.

[2]) F–A = früh 7 bis abends 7.

weitere Tendenz nach unten, ist jedoch sofort nach der Nahrungsaufnahme wieder auf der früheren Höhe. Das Gewicht fällt diesmal um 140 g bis zum 30. VII., ist aber am 2. VIII. wieder auf der alten Höhe, bleibt dann noch 4 Tage konstant, in denen offenbar wieder der Ausgleich zwischen Wasser- und Körpersubstanz stattgefunden hatte, um dann wieder zu steigen und am 17. VIII. auf 5800 g angekommen zu sein. Am Ende des Versuches 19 war der Turgor des Kindes ein ganz normaler und unverändert. Ödeme waren diesmal nicht nachzuweisen. Über die Wasserausscheidung gibt Tabelle XIII Auskunft. Wir sehen, daß in der Vorperiode das Verhältnis von Nahrungsvolumen zu Harnvolumen gegenüber dem vorigen Versuch etwas zurückgegangen ist. Im Hunger steigt das Verhältnis auf 84 an, um dann in der Nachperiode wieder auf 59,7 herunterzugehen.

Tabelle XV.
Überblick über Versuch 19.

	Dauer	Nahrung				Harn		Pro Kilo u. Std.	
		Menge	N	Fett	Kohlenhydrat	Menge	N	N der Nahrung	N des Harns
	Std.	ccm	g	g	g	ccm	g	g	g
Vorperiode	48	1600	8,376	67,0	152	716	5,781	0,0327	0,0227
Hunger 1. bis 18. Stunde	18	480	—	—	—	362	1,769	—	0,0185
„ 19. „ 36. „	18	640	—	—	—	550	1,585	—	0,0166
„ 37. „ 60. „	24	800	—	—	—	564	1,478	—	0,0116
„ 61. „ 76. „	16	480	—	—	—	512	1,265	—	0,0149
Nachperiode 1. bis 70. Std.	20	800				472	1,980		0,0187
„ 21. „ 44. „	24	800	21,553[1]	183,47[1]	456	516	1,082	0,0290 im Durchschnitt	0,0085
„ 45. „ 140. „	96	3200				1847	10,658		0,0209
Vorperiode	48	1600	8,335	67,0	152	716	5,781	0,0327	0,0227
Hunger, 1. bis 36. Stunde	36	1120	—	—	—	912	3,354	—	0,0176
„ 37. „ 76. „	40	1280	—	—	—	1076	2,743	—	0,0129
Nachperiode	140	4800	21,533	183,47	456	1847	13,7197	0,0290	0,0188
Hunger	76	2400	—	—	—	1988	6,097	—	0,0151

Aus Tabelle XIV und XV ist ersichtlich, daß die Ausscheidung von Stickstoff in der Vorperiode sich noch annähernd so verhält, wie in Versuch 18, dann geht jedoch der Stickstoffumsatz stark herunter. In der 37. bis 60. Stunde haben wir eine N-Ausscheidung von 0,012 g pro Kilogramm und Stunde, ähnlich wie am 2. Hungertage in Versuch 18,

[1]) Hier ist für N ein Abzug von 0,053 g, für Fett von 0,45 g gemacht. In den Flaschen waren geringe Mengen Milch zurückgeblieben, die auf die ganze Nachperiode zusammen verrechnet sind.

und dann haben wir auch hier am 3. Hungertag einen Anstieg auf 0,015. Auffallend ist jedoch in diesem Versuch, wie stark das Kind, besonders am 2. Tage der Nachperiode, Stickstoff retiniert. Die Ausscheidung sinkt auf 0,0085 von der 21. bis zur 44. Stunde nach Abschluß des Versuchs. Daß wir eine ganz mächtige Stickstoffretention und einen starken Stickstoffansatz in dieser Periode haben, läßt sich aber zahlenmäßig belegen. Wir haben nämlich in der Nachperiode auch den Kot des Kindes gesammelt und können über die Zeit vom 2. VIII. mittags 1 Uhr bis zum 4. nachmittags 7 Uhr über die Stickstoffretention genau Aufschluß geben. S. Tabelle XVI.

Tabelle XVI.

Vom 2. VIII. mittags 1 Uhr bis 4. VIII. abends 7 Uhr = 54 Stunden.

Einnahme: 1760 ccm Nahrung mit

8,684 g N 67,92 g Fett 167,2 g Kohlenhydrat.

Ausgabe:

Urin: 6,180 g N

Kot: 0,966 g N 10,46 g Fett

in 123,48 g feuchtem und 27,48 g trockenem Kote (96 g Wasser).

Die Trockensubstanz betrug also 22,25%.

Einnahme:	8,684 g N	67,92 g Fett	167,2 g Kohlenhydrat
Ausgabe:	7,146 g N	10,46 g „	—
Differenz:	1,538 g N	57,46 g Fett	167,2 g Kohlenhydrat.

Es sind also 1,538 g N in 54 Stunden angesetzt worden. Das ist pro Kilogramm in 54 Stunden 0,2902 g N, pro Stunde und Kilogramm 0,005 37 g N.

Für den Umsatz standen zur Verfügung für 54 Stunden:

38,62 g Eiweiß (Urin — N × 6,25),
57,46 g Fett,
167,2 g Kohlenhydrat.

Für 1 Stunde also:

0,715 g Eiweiß 1,064 g Fett 3,096 g Kohlenhydrat = 25,53 Cal.

Für 24 Stunden:

17,1 g Eiweiß 25,52 g Fett 74,36 g Kohlenhydrat = 612,7 Cal.

Hiervon geht ab, was an Fett und Glykogen angesetzt worden ist.

Wie die Tabelle lehrt, war der N-Ansatz in der Tat ein sehr beträchtlicher.

Lassen wir nochmals die ganzen Versuche in bezug auf den Eiweißumsatz an unserem Auge vorübergehen und vergleichen wir unsere Befunde mit denen, die bei Erwachsenen erhoben worden sind. In erster Linie sei dabei auf die Zahlen verwiesen, die Benedikt in seiner klassischen Arbeit über den Stoffwechsel im Hunger mitteilt (Tabelle XVII bis XIX).

Tabelle XVII.

Aus Benedict, The influence of inanition on metabolism, Washington 1907, S. 365

(Aus dem Original auf Stundenwerte umgerechnet.)

Nr. des Versuchs	g N pro Kilogramm u. Stunde im Harn		
	1. Hungertag	2. Hungertag	3. Hungertag
59	0,0073	0,0089	0,0094
68	0,0071	0,0077	—
69	0,0057	0,0082	0,0087
71	0,0042	0,0081	0,0097
73	0,0074	0,0087	0,0086
75	0,0086	0,0088	0,0098
77	0,0060	0,0075	0,0077
79	0,0059	0,0108	—
80	0,0047	0,0062	—
81	0,0062	0,0090	—
82	0,0055	0,0086	—
83	0,0099	0,0103	—
85	0,0071	0,0072	—
89	0,0053	0,0078	—
Durchschn.	0,0065	0,0084	0,0089

Erwähnt seien ferner die Versuche von Prausnitz[1]), bei denen sich pro Kilogramm und Stunde folgende Werte fanden (wir lassen dabei die Versuche 1 und 2 von Prausnitz als extrem aus der Reihe springend fort):

Tabelle XVIII.

Versuch Nr.	2. Hungertag (27. bis 60. Std.)
3	0,00738
4	0,00904
5	0,00754
6	0,00708
7	0,00854
8	0,01017
9	0,00925
10	0,00963
11	0,00800
12	0,00800
13	0,00733
14	0,00627
15	0,00675
Durchschnitt	0,00809

Wir sehen, daß die Werte hier in recht geringen Grenzen schwanken, 0,00627 ist das Minimum, 0,0102 das Maximum.

[1]) Prausnitz, Zeitschr. f. Biol. 29, 1892.

Im allgemeinen liegen die Werte dicht um den Durchschnitt herum.

Schließlich seien noch die Zahlen angeführt, die Keller[1]) bei sich selbst ermittelt hat:

Tabelle XIX.

1. Hungertag	(13. bis 36. Std.)	0,00458 pro kg u. Std.
2. „		0,00377
3. „		0,00441
4. „		0,00640

Wir sehen also, daß die Hungerwerte bei Keller in den ersten Tagen erheblich unter denen von Benedict und Prausnitz zurückbleiben. Für den ersten Tag findet sich allerdings bei Benedikt ein Analogon (Versuch 80). Bei Prausnitz findet sich die Angabe, daß seine Versuchsperson Nr. 2 (die oben ausgelassen ist), 9,8 g N pro 100 kg und 24 Stunden ausgeschieden hat, das sind 0,00408 g N pro Kilogramm und Stunde. Diese Versuchsperson 2 war ein fettreicher Cand. med., der große Mengen Bier zu konsumieren pflegte. Keller sagt, daß er selbst sich in normalem Ernährungszustande befunden habe, ohne nähere Angaben, was er damals als eine normale Ernährung betrachtete.

Vergleichen wir mit den Zahlen, die für den Erwachsenen festgestellt worden sind, die von uns für den Säugling ermitmelten, so finden wir, daß die Schwankungen ungefähr sich in ähnlicher Breite bewegen. Wir können aber hinzufügen, daß in ganz erheblichem Maße der Eiweißumsatz im Hunger abhängig von der vorausgegangenen Ernährung ist. Je stickstoffreicher diese Ernährung war, desto mehr Eiweiß wird auch am 2. und 3. Hungertage aus dem Körperbestande des Säuglings umgesetzt. Wir sehen dabei, daß im allgemeinen im Hunger der Organismus weniger von dem kostbaren Körpereiweiß einreißt, als er während der Zeit, wo ihm Eiweiß von außen zugeführt wurde, abbaut.

Ein wesentlicher Unterschied zeigt sich bei den natürlich genährten Kindern im Gegensatz zu unnatürlich Genährten (siehe Fig. 2). Bei den ersteren sehen wir nämlich den Harnstickstoff im Hunger ansteigen, es wird also mehr Körpereiweiß eingerissen.

---

[1]) Keller, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 165, 1900.

Bei der Ernährung an der Brust wird weniger Eiweiß zersetzt als im Hunger. Dabei ist die Menge Eiweiß, die ein hungerndes Brustkind aus seinem Körperbestande entnimmt, um seine Stoff- und Kraftwechselausgaben zu decken, immer noch wesentlich geringer, als das Eiweiß, das ein künstlich

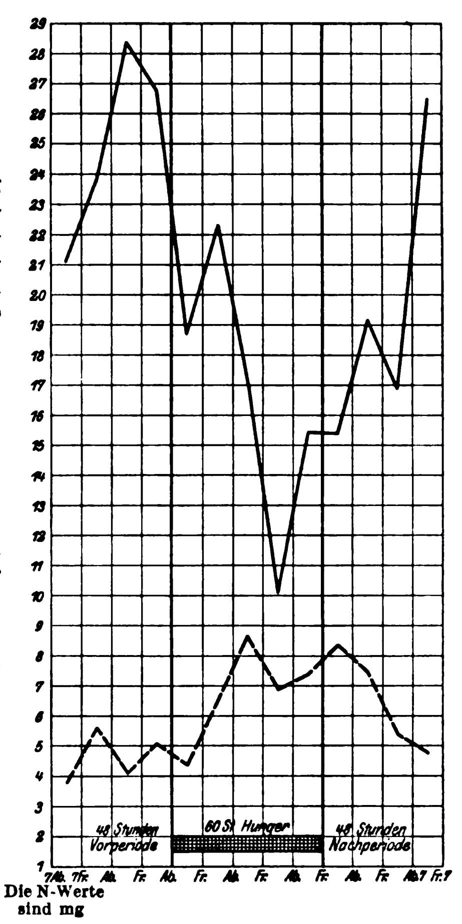


Fig. 2. Die N-Ausscheidung im Hunger nach vorausgegangener und folgender natürlicher und unnatürlicher Ernährung. Alle Werte sind auf **Kilo Kind und Stunde** umgerechnet.

——— Kind G. Versuch 18. Unnatürlich genährt.
.... Kind A. Versuch 16. Natürlich genährt.

Das natürlich genährte Kind scheidet auch im Hunger weniger N aus als das andere.

Beim natürlich genährten Kinde steigt, beim unnatürlich genährten fällt die N-Ausscheidung im Hunger.

genährtes Kind verbraucht. Das Brustkind wird also im Hunger weniger von seinem Körpereiweiß niederreißen, als das auf unnatürliche Weise aufgebaute Kind. Wenn aus irgendwelchen Gründen ein Brustkind hungern muß, wird es über diesen Hunger viel leichter mit viel geringerer Gefährdung hinwegkommen, als das bei einem unnatürlich genährten Kinde der Fall ist.

4.

Die Ausscheidung von Aceton und von β-Oxybuttersäure[1]).

Im Hunger steigt die Ausscheidung von Aceton, das sich bei auskömmlicher Nahrung im Harn nur in minimalen Mengen findet, rasch an. Die Ursache für das Auftreten von Aceton, resp. von Diacetessigsäure und von β-Oxybuttersäure ist das Fehlen von Kohlenhydraten in der Nahrung. So kann man wohl in Kürze den heutigen Stand über die Acetonausscheidung beim Erwachsenen wiedergeben. Die Acetonmengen, die bei gewöhnlicher Nahrung im Harn von einem Erwachsenen ausgeschieden werden, sind etwa 10 bis 30 mg pro die[2]), d. i. etwa 0,01 mg pro Kilogramm und Stunde, also Mengen, die praktisch für den Stoff- und Kraftwechsel nicht von Bedeutung sind. Die Acetonausscheidung durch die Lunge soll etwas größer sein, etwa das 2- bis 3fache betragen. Im Hunger steigt beim Erwachsenen die Acetonausscheidung sowohl durch den Harn wie durch die Lunge beträchtlich an. Am 16. Hungertage fanden z. B. Bönniger und Mohr[3]) bei einer Hungerkünstlerin 2,247 g Aceton im Harn und 1,776 g in der Exspirationsluft. Fr. Müller[4]) teilt mit, daß bei dem Hungerkünstler Cetti das Aceton schon am 1. Hungertage nachweisbar war, am 2. Tage zunahm und dann in erheblicher Menge vorhanden war, daß aber nach Beendigung des Fastens die Eisenchloridreaktion ebenso rasch, wie sie aufgetreten war, wieder zurückging. Bei Breithaupt, bei dem sich die „Hungererscheinungen" langsamer entwickelten und schwächer ausgeprägt schienen, war am

---

[1]) Aceton wurde im weiteren Verlauf der Untersuchungen nach der Methode von Messinger*) bestimmt, bei der dasselbe nach erfolgter Destillation mit Oxalsäure durch Zusatz von überschüssiger $^{n}/_{10}$-Jodlösung in alkalischer Lösung in Jodoform übergeführt und der Überschuß von Jod durch $^{n}/_{10}$-Natriumthiosulfat zurücktitriert wird.

Die Bestimmung der β-Oxybuttersäure erfolgte nach S. Shindo**). Bei dieser Methode wird die β-Oxybuttersäure bekanntlich durch Destillation des alkalisch gemachten eingedampften Harns mit 50%iger Schwefelsäure in α-Crotonsäure übergeführt, das Destillat zur Entfernung der Phenole mit Bariumcarbonat zur Trockne verdampft; in dem wässerigen filtrierten Auszug aus dem Trockenrückstand wird die Menge der α-Crotonsäure durch ihr Bromadditionsvermögen jodometrisch ermittelt.

[2]) Literatur bei Magnus-Levy, Die Acetonkörper. Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 1, 1908.

[3]) Bönniger und Mohr, Die Säurebilanz im Hunger. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 3, 1906.

[4]) Fr. Müller, Untersuchungen an zwei hungernden Menschen. Virchows Archiv 131, Supplementheft, 1893.

---

*) A. Lieben, Annal. d. Chem. 7, Suppl., S. 218 u. 377, 1870.

**) S. Shindo, Über die quantitative Bestimmung der β-Oxybuttersäure im Harn. Inaug.-Diss. München 1907.

1. Hungertage keine Spur von Eisenchloridreaktion im Harn nachweisbar, am 2. Tage war sie angedeutet, am 3. Tage deutlich ausgesprochen und erst am 5. und 6. Hungertage wirklich stark. Auch hier verschwand die Reaktion rasch mit dem Wiederbeginn der Ernährung. Bei Cetti fand sich das Maximum an Aceton am 4. Hungertage mit 0,784 g, bei Breithaupt am 5. Tage mit 0,574 g. Berechnen wir diese Werte auf Kilogramm und Stunde um und vergleichen sie mit den ausgeschiedenen N, so ergibt sich folgendes:

Tabelle XX.

Es schieden aus pro Kilogramm und Stunde:

Cetti (4. Tag)	9,0 mg N	0,57 mg Aceton
Breithaupt (5. Tag) . . .	7,6 „ „	0,39 „ „

Die Werte sind auf das Gewicht vor dem Hunger berechnet.

Auf 100 mg N kamen bei Cetti . . .	6,3 mg Aceton
„ 100 „ „ „ „ Breithaupt .	5,1 „ „

Für den Säugling haben Ludwig F. Meyer und Langstein[1]) Zahlen über die Acetonausscheidung im Hunger bei gesunden Kindern beigebracht. Bei einem 5 monatigen Kinde (Ernährung und Gewicht sind nicht angegeben) fanden sie:

am 1. Hungertage	1,70 mg Aceton
„ 2. „	15,09 „ „
„ 3. „	19,34 „ „

Bei einem anderen 3 monatigen Säugling fanden sie:

am 2. Hungertage	17,4 mg Aceton
„ 3. „	36,3 „ „

Aus unseren Versuchen ergibt sich nun, daß der Säugling im allgemeinen bei gewöhnlicher Ernährung nur Spuren von Aceton im Urin ausscheidet. Die Mengen sind, auf Kilogramm und Stunde umgerechnet, in den 100000. Teilen eines Gramms zu suchen, also an oder unter der Grenze des Wägbaren. Sobald aber die gereichte Nahrung umgesetzt ist, also nach Ablauf von ca. 12 Stunden von der letzten Mahlzeit an gerechnet, geht die Acetonmenge im Harn zuerst langsam, dann rapid in die Höhe und erreicht bald recht respektable Werte, die selbst die beim Erwachsenen am 4. bzw. 5. Hungertage wesentlich überschreiten. So haben wir z. B. in Versuch 19 zwischen 19. und 36. Stunde fast 2 mg pro Kilogramm und Stunde, in der 61. bis 76. Stunde 1,2 mg. Im übrigen bewegen sich die Höchstwerte ungefähr in ähnlicher Breite, wie sie bei Cetti und Breithaupt in maximo gefunden wurden (siehe Tabellen XXI und XXII).

---

[1]) Meyer und Langstein, Die Acidose des Säuglings. Jahrb. f. Kinderheilk. 63, 30, 1906; auch Verhdl. d. Ges. f. Kinderheilk. 1905.

Tabelle XXI.

Die Acetonausscheidung pro Kilogramm und Stunde in den Versuchen 7 bis 12 und 14.

Versuch 7.

Vorausgehende Ernährung: Frauenmilch.

	N mg	Aceton mg
5.—10. Std. nach der letzten Nahrung	5,0	Spuren
10.—22. „ „ „ „ „	10,0	0,234
23.—34. „ „ „ „ „	11,2	0,422

Versuch 8.

Vorausgehende Ernährung: Frauenmilch.

	N mg	Aceton mg
5.—10. Std. nach der letzten Nahrung	6,7	0,126
11.—22. „ „ „ „ „	4,8	0,29
23.—28. „ „ „ „ „	8,2	0,46
29.—34. „ „ „ „ „		0,54
Nachperiode	7,2	0,31

Versuch 9.

Vorausgehende Ernährung: Caseinmilch u. a.

	N mg	Aceton mg
Erste 18 Std. nach der Nahrung	17,9	0,36
19.—30. Std. „ „ „	20,6	1,74
Nachperiode 12 Std.	23,4	0,33

Versuch 10.

Vorausgehende Ernährung: Vollmilch u. a.

	N mg	Aceton mg
1.—10. Std. nach der Nahrung	18,9	0
11.—22. „ „ „ „		0,99
23.—34. „ „ „ „	16,2	1,80
Nachperiode 1.—12. Std.	19,5	0,84
„ 13.—24. „		0,99
2 Tage später		0

Versuch 11.

Vorausgehende Ernährung: Frauenmilch.

	N mg	Aceton mg
Vorperiode	3,35	0
Hunger 1.—24. Std.	4,15	Spuren
„ 25.—36. „	7,03	0,39
Nachperiode	8,60	0,23

Versuch 12.

Vorausgehende Ernährung: Frauenmilch.

	N mg	Aceton mg
Hunger 1.—24. Std.	11,60	0,042
„ 25.—36. „	15,10	0,570

Versuch 14.

Vorausgehende Ernährung: Frauenmilch.

	N mg	Aceton mg
Hunger 1.—16. Std.	4,51	Spuren
„ 17.—32. „	7,43	0,224

Tabelle XXII.

(Versuch 16 bis 19.)

Versuch 16.

(Frauenmilchernährung.)

Es wurden im Harn ausgeschieden in Milligramm pro Kilogramm und Stunde:

	N	Aceton	β-Oxybuttersäure	
Vorperiode 48. Std.	4,87	0,0315	0,622	(interpoliert)
Hunger 1. Tag	5,54	0,120	0,584	(interpoliert)
„ 2. „	7,87	0,421	0,569	
„ 3. „	7,42	0,292	0,421	
Nachperiode 1. Tag	7,95	0,297	0,666	
„ 2. „	4,70	0,018	0,485	

Versuch 17.

(Knappe Kuhmilchnahrung.)

	N	Aceton	β-Oxybuttersäure
Vorperiode 36. Std.	17,3	0,0718	0,212
Hunger 1. Tag	14,3	0,109	0,238
„ 2. „	13,1	0,507	0,551
Nachperiode 1. Tag	14,8	0,180	0,500
„ 2. „	13,1	0,036	0,305

Versuch 18.

(Reichliche Ernährung, Kuhmilch, Kohlenhydrate.)

	N	Aceton	β-Oxybuttersäure
Vorperiode 48. Std.	24,9	0,0132	—
Hunger 1. Tag	21,61	0,446	—
„ 2. „	12,9	0,623	—
„ 3. „	15,4	0,480	—
Nachperiode 1. Tag	18,0	0,232	—
„ 2. „	21,6	0,011	—

Versuch 19.

(Ernährung wie bei Versuch 18.)

	N	Aceton	β-Oxybuttersäure	
Vorperiode 48. Std.	22,7	0,020	0,329	(24 Std.)
Hunger 1.—18. Std.	18,5	0,030	0,231	(a. d. ersten 12 Std.
„ 19.—36. „	16,6	1,980	0,984	berechnet)
„ 37.—60. „	11,6	0,930	1,480	
„ 61.—76. „	14,9	1,200	1,270	
Nachperiode 1.—20. Std.	18,7	0,2850	0,309	(aus 9.—20. Std.)
„ 21.—44. „	8,5	0,0245	0,260	(aus 21.—32. Std.)
„ 45.—140. „	20,9	0,0158	0,316	(interpoliert)

Betrachten wir nun das Verhältnis von N im Harn zum Aceton, so sehen wir wieder einen offenkundigen Unterschied zwischen den bislang mit Frauenmilch und den mit Kuhmilch genährten Kindern. Im allgemeinen nämlich scheidet das Frauenmilchkind auch im Hunger weniger Aceton aus als das Kuhmilchkind (siehe z. B. Versuche 16, 14 u. a. auf der einen, Versuche 18, 19, 10, 9 auf der anderen Seite). Nach einer an und für sich knappen und vor allem eiweißarmen Diät bleibt der Aceton-

gehalt des Urins im Hunger in niedrigen Grenzen. Aber der Unterschied zwischen dem Verhalten des Acetons und des N liegt darin, daß beim Brustkind im Hunger N und Aceton steigen, bei dem künstlich genährten die Acetonmenge steigt, die N-Menge fällt. Der Unterschied springt ins Auge, wenn man Kurve 3, die den Versuch 16 wiedergibt, und Kurve 4, die den Versuch 19 graphisch darstellt, vergleicht.

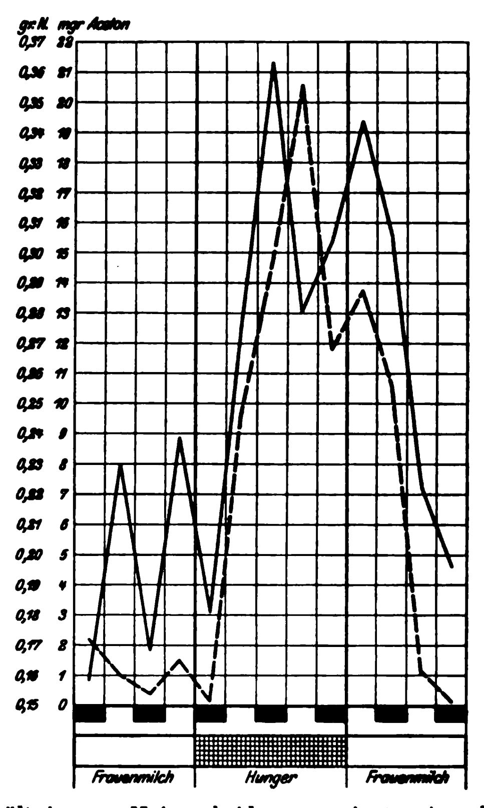
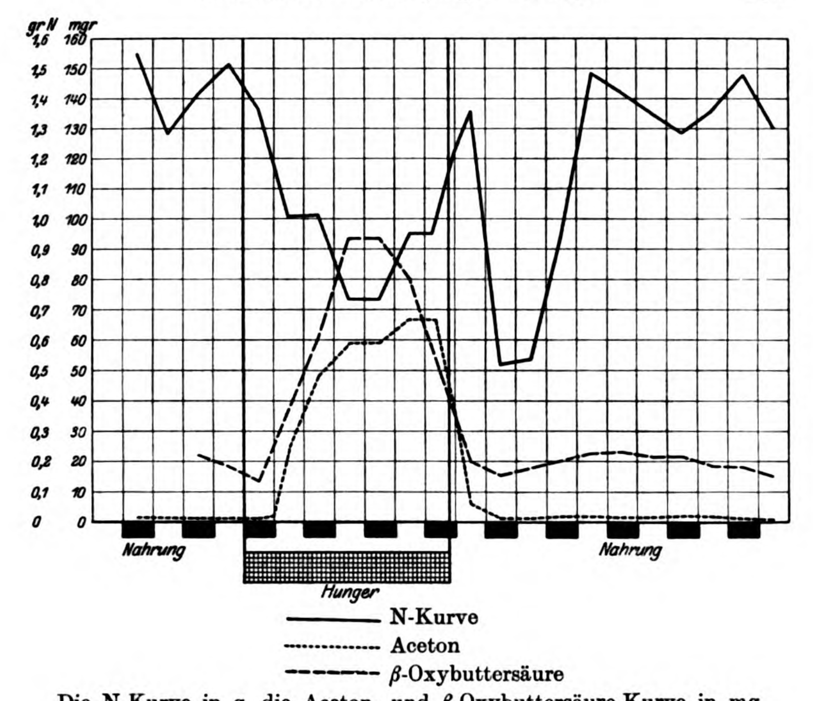


Fig. 3. Verhältnis von N-Ausscheidung zu Aceton-Ausscheidung nach vorausgegangener Ernährung mit Frauenmilch.
(Versuch 16. Die Zahlen in g N bzw. mg Aceton direkt eingezeichnet, die Nachtzeiten sind schwarz markiert.)

Dabei hängt offenbar die Menge Aceton, die im Harn ausgeschieden wird, in weitem Maße von der Menge zersetzten Eiweißes ab. Auf Tabelle XXIII sind die Mengen Aceton ausgerechnet, die auf je 100 N kommen. Man ersieht daraus eine weitgehende Übereinstimmung. Nur in Versuch 11 scheint die Acetonausscheidung relativ zu dem ausgeschiedenen N besonders hoch; doch war hier das Kind lange an eine sehr abundante Nahrung gewöhnt, und zwar in Hinsicht auf alle Nahrungsbestandteile.



Die N-Kurve in g, die Aceton- und β-Oxybuttersäure-Kurve in mg.

Fig. 4. Die Ausscheidung von N, von Aceton und von β-Oxybuttersäure im Hunger und bei Nahrung. (Versuch 19, direkt gezeichnet.)

Tabelle XXIII.

Auf je 100 Teile N im Harn kommen Teile Aceton in Versuch					
	16	17	18	19	
Vorperiode:	0,65	0,41	0,04	—	0,09
Hunger 1. Tag	2,17	0,76	2,65	1.—18. Std.	0,16
" 2. "	5,35	3,87	4,86	19.—36. "	11,90
" 3. "	3,94	—	3,12	37.—60. "	8,00
				61.—76. "	8,00
Nachperiode:					
1. Tag	3,73	1,22	1,29	1.— 20. "	1,50
2. Tag	0,38	0,27	0,05	21.— 44. "	0,28
				45.—140. "	0,08

Ist einerseits also eine Beziehung zwischen dem im Hunger zersetzten Eiweiß und dem ausgeschiedenen Aceton vorhanden, so ist doch die unerläßliche Prämisse für das Auftreten des letzteren der Mangel an Kohlenhydrat. Läßt man das Kind nur relativ hungern, d. h. entzieht man ihm Eiweiß und Fett und gibt ihm dabei Kohlenhydrat, so ist von einer Acetonurie nicht die Rede. In trefflicher Weise illustrieren das die Versuche 13 und 15 (s. Tabelle XXIV und Fig. 5 u. 6).

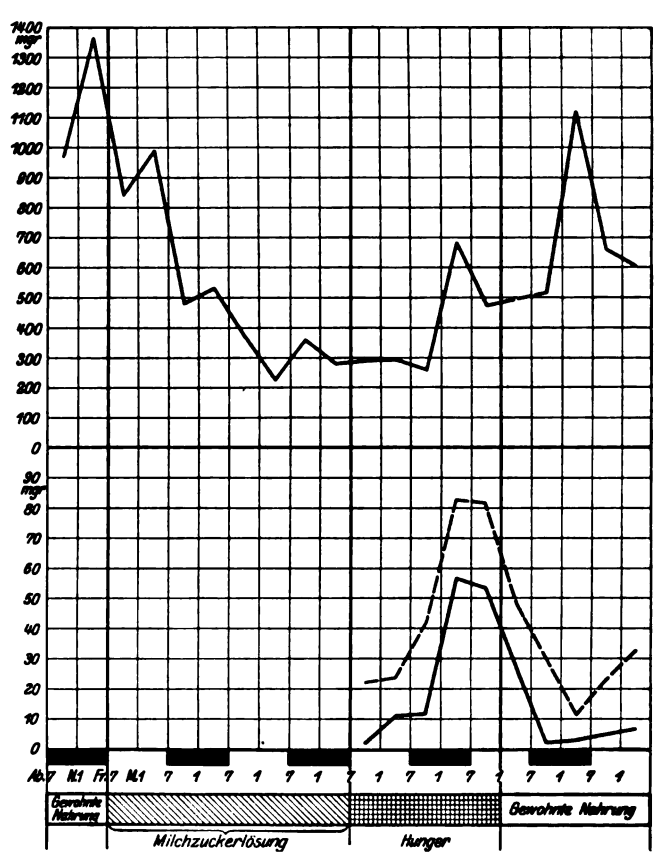


Fig. 5. Die Ausscheidung von N, Aceton und β-Oxybuttersäure durch den Harn bei Vollkost, ausschließliche Ernährung mit Milchzucker und bei Hunger. (Versuch 13.)

Tabelle XXIV.

Die Acetonausscheidung bei Zuckerverfütterung und bei Hunger (nach Versuch 13 und 15, s. Fig. 5 u. 6).

Versuch 13.

Vorausgehende Ernährung: Vollmilch u. a.

Vorperiode		29,00 mg N	Kein Aceton
Milchzucker . . .	1 bis 24 Std.	18,00 „ „	do.
do. . . .	25 „ 48 „	7,79 „ „	do.
Völliger Hunger .	1 „ 16 „	7,07 „ „	0,210 mg Aceton
do. .	17 „ 28 „	16,70 „ „	1,400 „ „
Nachperiode . .	1 „ 12 „	—	0,370 „ „
do. . .	13 „ 30 „	19,70	0,130 „ „

Versuch 15.

Vorausgehende Ernährung: wie im Versuch 13.

Vorperiode		24,70 mg N	0 Aceton
Milchzucker . . .	1 bis 12 Std.	19,05 „ „	0,056 mg Aceton
do. . . .	13 „ 30 „	15,30 „ „	0,065 „ „
Hunger	24 Std.	14,40 „ „	0,810 „ „
Nachperiode . .	1 bis 12 „	} 20,20 „ „	0,660 „ „
do. . .	13 „ 30 „		0,084 „ „

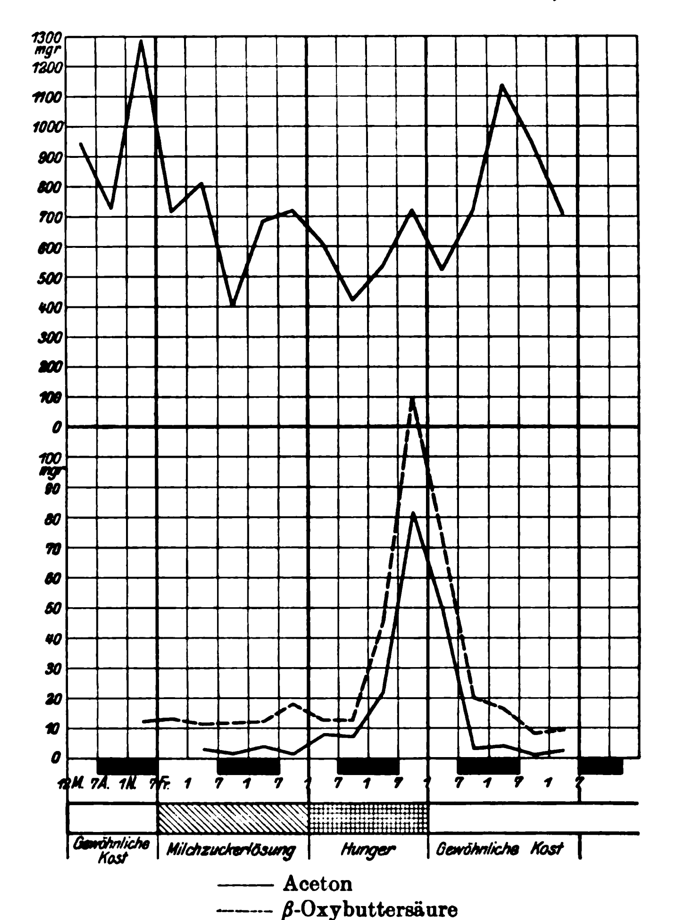


Fig. 6. Die Ausscheidung von N, Aceton und β-Oxybuttersäure durch den Harn bei Vollkost, ausschließliche Ernährung mit Milchzucker und absolutem Hunger. (Versuch 15.)

Bei diesen Versuchen erhielt das Kind nach einer Vorperiode nichts als Milchzuckerlösung (7%ige), von der es 1000 ccm trank = 70 g Milchzucker. Der Eiweißumsatz mußte also aus dem Körperbestande gedeckt werden. Dabei tritt keine bemerkbare Acetonurie auf. Als jedoch auch

die Milchzuckerlösung fortbleibt und durch ClNa-Lösung ersetzt wird, schnellt mit einem Schlage der Acetongehalt des Urins in die Höhe.

Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß auch für den Säugling das Fehlen der Kohlenhydrate die Vorbedingung für die Entstehung des Acetons ist.

Diese Tatsache an und für sich ist eigentlich recht erstaunlich. Wir wissen, daß der tierische Organismus sich in weitem Maße den Verhältnissen der Umwelt anpaßt. Wenn als Nahrung dem Säugling entgegen seiner eigentlichen Veranlagung eine eiweißreiche und fettarme, ja auch kohlenhydratarme Nahrung gereicht wird, so gewöhnt sich das Kind hieran und nutzt konstant die latente Energie des Eiweißes für seine Arbeitszwecke und für die Deckung der Wärmeausgabe sehr gut aus.

Diese Anpassungsfähigkeit an die realen Verhältnisse scheint aber im Hunger insofern zu versagen, als jetzt auf einmal eine gewisse Menge Energie in Form von Aceton usw. ausgeschieden wird, die bei völliger Verbrennung im Körper noch nutzbar zu machen gewesen wäre. Wir sehen, wie einerseits der Energieverbrauch im Hunger eingeschränkt wird und wie doch andererseits eine Energieverschwendung Platz greift, indem der Brennwert des Harns sich dadurch erhöht, daß neben den Substanzen, die immer in nicht völlig oxydiertem Zustande ausgeschieden werden, auch andere sich finden, die sonst nicht vorkommen oder wenigstens nur in praktisch unbeachtlichen Mengen gefunden werden. Allerdings ist der Energieverlust, den der Organismus erleidet, kein wesentlicher. 1 g Aceton gibt 7,303 Calorien, 1 g β-Oxybuttersäure 4,555. In Versuch 19 sind z. B. an einem Hungertage

	0,117 g Aceton	= 0,85 Calorien
und	0,188 g β-Oxybuttersäure	= 0,86 „
	in Summa	1,71 Calorien

durch den Harn ausgeschieden worden. Im Verhältnis zu dem Gesamtumsatz von ca. 300 Calorien in der Tat keine sehr wesentliche Energieeinbuße.

Freilich kommt nun das Aceton hinzu, das durch die Atmungsluft ausgeschieden wird. Die Menge dieses Acetons kennen wir nicht genau, doch lassen orientierende Versuche, an denen wir gerade arbeiten, es wahrscheinlich werden, daß die Menge Aceton, die auf diesem respiratorischen Wege ausgeschieden wird, nicht hinter der im Urin zu findenden zurückbleibt. Das zweite, was in der Frage der Acetonbildung recht auffällt, ist der zeitliche Eintritt dieser Erscheinung. Sofort nach Verbrennung des letzten gereichten Kohlenhydrates und mit dem Beginn der Zersetzung von Körpereiweiß tritt nämlich die Acetonbildung in Erscheinung, also zu einer Zeit, wo der Organismus noch reichlich über Kohlenhydratvorräte verfügt. Würde erst mit der Erschöpfung dieser Bestände eine Acetonbildung einsetzen, so würde das weniger rätselhaft sein als die so vorliegende Tatsache, daß eben Körperkohlenhydrat die Acetonbildung nicht zu hindern vermag, wohl aber von außen zugeführtes Kohlenhydrat.

Wir sind nun in der Lage, auch hierin etwas klarer zu sehen. Dr. Mockwitz war gerade an der Klinik mit Studien über den Blutzucker der Säuglinge beschäftigt und hat bei einigen der von uns beobachteten Kinder Untersuchungen nach dieser Richtung angestellt. Er wird über seine Arbeiten an anderer Stelle[1]) berichten; doch sei hier kurz erwähnt, daß der Blutzuckerspiegel noch völlig ohne Schwankung war zu Zeiten, in denen schon erhebliche Mengen Aceton im Harn ausgeschieden wurden. So wurde in einem Versuche nach 41 stündigem Hunger noch ein Blutzuckergehalt von 0,098% gefunden (Versuch 18), der aber nach 48 Stunden auf 0,056% sank.

Was die Ausscheidung von β-Oxybuttersäure anbelangt, so geht diese, wie die Tabellen und besonders auch Fig. 4, 5 u. 6 zeigen, mit der Acetonbildung ziemlich parallel. Die Menge der β-Oxybuttersäure ist etwas größer als die des Acetons.

5.

Der Gasstoffwechsel im Hunger.

Ein wirklicher Einblick in den Stoffwechselumsatz ist nicht möglich, wenn man nicht auch die gasförmigen Einnahmen und Ausgaben des Körpers verfolgt. Hierdurch wird natürlich die Arbeit wesentlich erschwert; der Zuwachs an Erkenntnis und Einsicht in die Vorgänge im Organismus während des Hungers lassen die Mehrarbeit als durchaus zweckmäßig erscheinen. Wir haben daher in die Versuche 18 und 19 respiratorische Bestimmungen eingeschoben. Am Abend um 7 Uhr wurde das Kind in unsern Respirationsapparat (Regnault-Reiset) gebracht und verblieb 3 Stunden darin, und zwar in Versuch 18 nach 48 stündigem Hunger, in Versuch 19 nach 48 stündigem Hunger und nochmals nach 72 stündigem Hunger. Während der 3 Stunden, von 7 Uhr bis 10 Uhr abends, pflegte das Kind recht ruhig sich zu verhalten; bei Versuch 19 verliefen beide Versuche in trefflicher Ruhehaltung, in Versuch 18 war das Kind vorher etwas weniger ruhig, so daß mit dem Beginn gezögert werden mußte (siehe Fig. 7, 8, 9). Die Nachwirkung dieser etwas unruhigen Haltung vor dem Beginn gibt sich in etwas höheren Werten zu erkennen. Der Versuch lag immer annähernd in der Mitte einer 24 stündigen Periode, die von früh 7 Uhr bis zum nächsten Morgen 7 Uhr ging. Da wir die N-Bestimmungen im Urin mindestens alle 12 Stunden vornahmen, so konnten wir immer

[1]) Monatsschr. f. Kinderheilk.

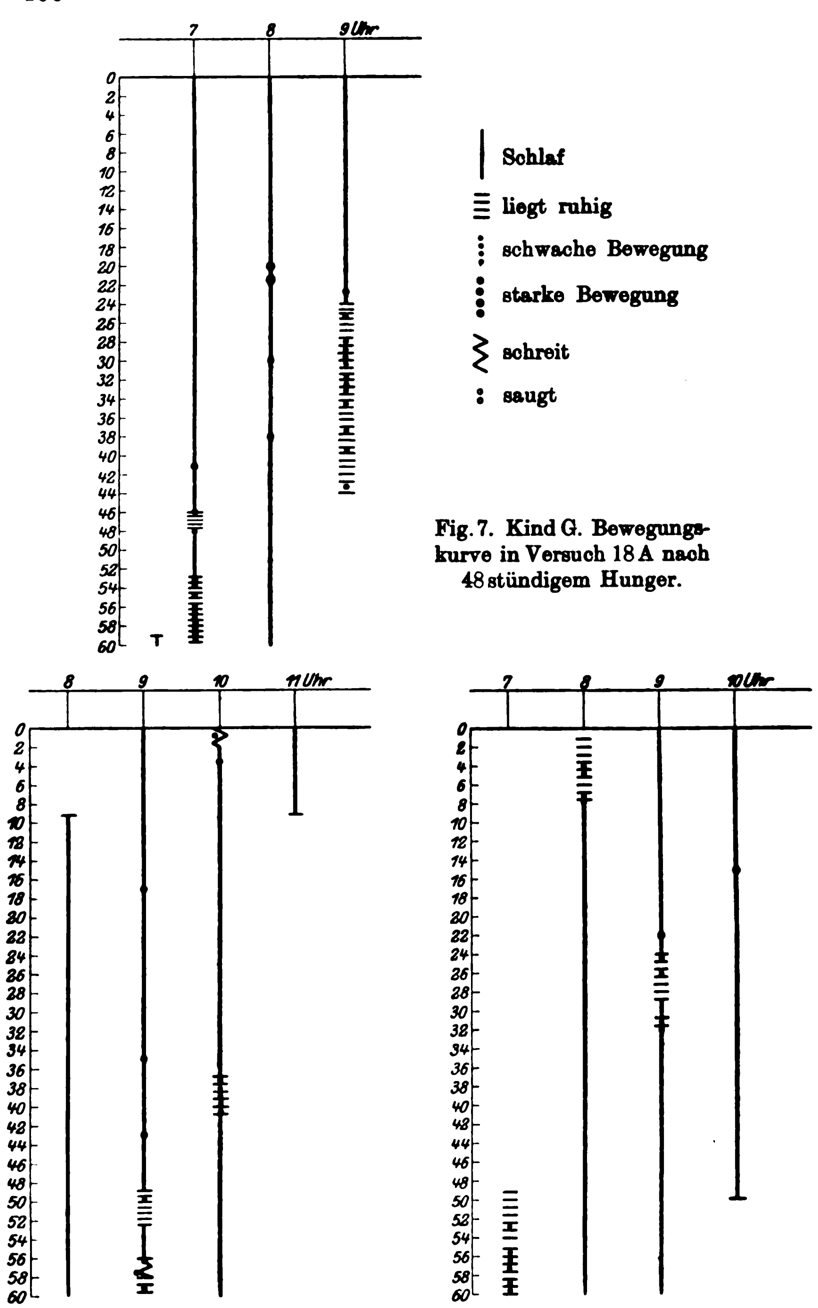


Fig. 7. Kind G. Bewegungskurve in Versuch 18 A nach 48stündigem Hunger.

Fig. 8. Kind G. Bewegungskurve zu Versuch 19 B nach 48stünd. Hunger.

Fig. 9. Kind G. Bewegungskurve zu Versuch 19 C nach 72stünd. Hunger.

leicht feststellen, wieviel Eiweiß in 24 Stunden umgesetzt worden ist. Der 8. Teil dieses Eiweißes wird dann den 3 Stunden des Versuchs zugerechnet und darauf die übrigen Berechnungen eingestellt. Unser Kind G. war in den ganzen Versuchen immer musterhaft brav und schrie sehr selten. Trotzdem ist die Ruhe in den 3 Stunden, die jeder Respirationsversuch dauerte, eine noch wesentlich vollkommenere gewesen. Der Umsatz in den übrigen 21 oder doch in etwa 8 bis 10 dieser übrigen 21 Stunden war also wohl größer als aus unseren Versuchen sich ergibt. Die Zahlen, die wir damit geben, stellen also die Minimalwerte, also Ruhewerte im Hunger dar. Bei dem Mangel an Beobachtungen dieser Art sind daher die ermittelten Zahlen doppelt wichtig.

Der respiratorische Quotient betrug:

Respirationsversuch A.	Versuch 18	Hungerdauer	48 Std.	0,779
" B.	" 19	"	48 "	0,778
" C.	" 19	"	72 "	0,790

Benedikt[1]) fand am 1. Hungertage einen respiratorischen Quotienten von 0,79, am 2. Hungertage 0,75, am 3. Hungertage 0,74, also Quotienten, die etwas unter den unsrigen liegen.

Die ausgeschiedene Menge CO_2, bzw. die aufgenommene Menge O betrug in unsern Versuchen:

Tabelle XXIII.

Respir.-Versuch	Versuch	Hunger Std.	pro kg u. Std. CO_2 g	pro kg u. Std. O g	pro qm Oberfläche u. Std. CO_2 g	pro qm Oberfläche u. Std. O g
A.	18	48	0,8739	0,8188	12,278	11,493
B.	19	48	0,8261	0,774	12,04	11,28
C.	19	72	0,751	0,692	10,94	10,95

Wir können also bei Versuch 19 ganz genau verfolgen, wie der Stoffumsatz, und zwar sowohl pro Kilogramm wie pro Quadratmeter Fläche, zurückgeht. Die drohende Erschöpfung der Reservestoffe gebietet also der Lebhaftigkeit des Stoffumsatzes Halt.

Was nun den Stoffumsatz im einzelnen anbelangt, so zersetzt das Kind:

[1]) Am angeführten Orte.

Tabelle XXIV.

Das Kind zersetzt pro Stunde:

Respir.-Versuch	Versuch	Hunger Std.	Eiweiß g	Fett g	Kohlenhydrat g
A.	18	48	0,380	0,928	0,616
B.	19	48	0,385	0,988	0,652
C.	19	72	0,494	0,784	0,653
Das Kind zersetzt in 24 Stunden:					
A.	18	48	9,120	22,272	14,784
B.	19	48	9,240	23,712	15,648
C.	19	72	11,860	18,816	15,670

Auf 1 kg Kind umgerechnet fand sich:

Tabelle XXV.

Respir.-Versuch	Versuch	Dauer des Hungers Std.	Pro kg Kind und Tag (24 Std.) wurden zersetzt		
			Eiweiß g	Fett g	Kohlenhydrat g
A.	18	48	1,92	4,69	3,12
B.	19	48	1,74	4,47	2,95
C.	19	72	2,24	3,55	2,95

Im Vergleich hierzu fand Benedict:

Pro Kilogramm und 24 Std.

1. Hungertag	0,94 g Eiweiß,	2,10 g Fett,	1,69 g Glykogen
2. „	1,21 g „	2,61 g „	0,62 g „
3. „	1,28 g „	2,54 g „	0,36 g „

Der Kraftumsatz des Kindes betrug in 24 Stunden:

Versuch A. 48 stünd. Hunger, 305,1 Cal = 62,2 Cal pro Kilogramm und 903,5 Cal pro Quadratmeter Oberfläche.

Versuch B. 48 stünd. Hunger, 322,6 Cal = 60,8 Cal pro Kilogramm und 887 Cal pro Quadratmeter Oberfläche.

Versuch C. 72 stünd. Hunger, 287,9 Cal = 54,3 Cal pro Kilogramm und 792 Cal pro Quadratmeter Oberfläche (siehe Fig. 10 u. 11).

Was an unseren Versuchen ganz besonders auffällt, ist somit die Tatsache, daß auch am 3. Hungertage der Glykogengehalt unseres Kindes noch so reichlich war, daß ebensoviel zersetzt werden konnte, wie am 2. Hungertage, daß die Herabsetzung des Stoff- und Kraftwechsels ausschließlich auf eine Verminderung der Fettnahrung zurückzuführen ist. Es zeigt sich ferner, daß natürlich auch im Hunger, auf das Kilogramm Kind bzw. Erwachsenen bezogen, der Verbrauch des ersteren wesentlich höher ist als der des letzteren. Dabei darf nicht aus dem Auge gelassen werden, daß unser Kind vor dem Versuch eine sehr abundante Ernährung erhielt, und zwar nach jeder Richtung hin.

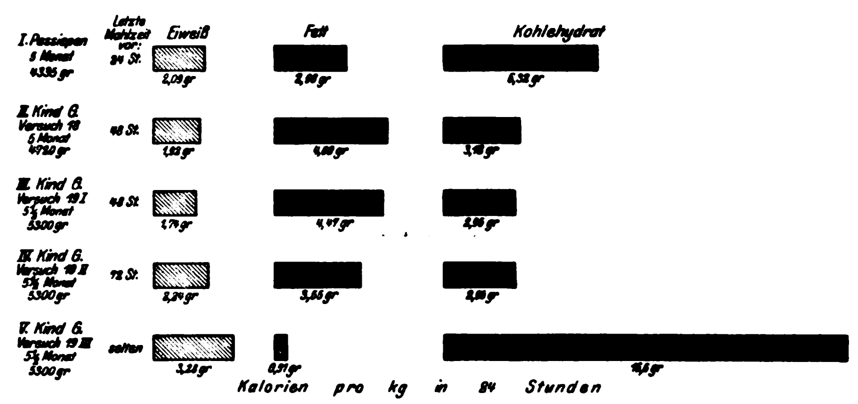


Fig. 10. Umsatz pro Kilo Kind in 24 Stunden.

Wir haben nun früher[1]) bei einem Kinde nach 24stündigem Hunger den Grundumsatz bestimmt; es handelte sich da allerdings im Gegensatz zu dem jetzt untersuchten Säugling um ein sehr fettarmes Kind, das vorher auch nicht sehr reichlich und vor allem mit wenig Fett genährt worden war. Dieses Kind zeigte folgende Werte, die vergleichsweise angeführt werden sollen:

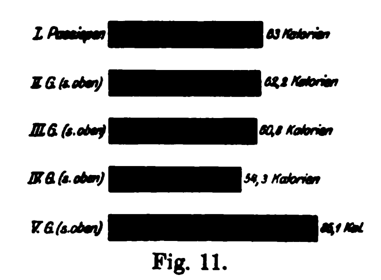


Fig. 11.

Respiratorischer Quotient 0,856 bzw. 0,832.
Eiweiß in 24 Std. . . . 9,03 g ⎫
Fett . . . . 12,88 g ⎬ umgesetzt.
Glykogen . . . . 28,32 g ⎭
Calorien 275

Pro Kilogramm Kind:

Eiweiß . . . . 2,09 g
Fett . . . . 2,98 g
Glykogen . . . . 6,32 g
Calorien 63
Pro qm Oberfläche . . . 859 Calorien.

Nach 24 Stunden ist also bei diesem Kinde die Glykogenverbrennung ganz wesentlich höher als bei unseren jetzigen Versuchen, die Fettverbrennung aber niedriger.

Endlich haben wir bei unseren jetzigen Untersuchungen am Ende von Versuch 19, nachdem das Kind wieder seit 6 Tagen seine alte Nahrung hatte, nochmals den respiratorischen Stoffwechsel bei dieser Ernährung festgestellt. Das Kind kam sofort nach dem Austrinken der

---

[1]) Diese Zeitschr. 26, 1910.

Flasche in den Respirationsapparat und verblieb bis zur nächsten Mahlzeit, also etwas über 4 Stunden, darin. Über das Verhalten des Kindes im Versuch gibt Fig. 12 Auskunft.

Es fand sich folgendes:

Es wurden zersetzt pro Stunde	0,725 g	Eiweiß,
	0,112 g	Fett,
	3,66 g	Kohlenhydrat.
In 24 Stunden also	17,4 g	Eiweiß,
	2,69 g	Fett,
	87,84 g	Kohlenhydrat.
Pro Kilogramm Kind in 24 Std.	3,28 g	Eiweiß,
	0,51 g	Fett,
	16,6 g	Kohlenhydrat.

Es ergibt sich, daß bei dieser abundanten Ernährung das Kind 456,6 Calorien umgesetzt hat, also pro Kilogramm in 24 Stunden 86,1 Calorien und pro Quadratmeter 1255 Calorien.

In der gereichten Nahrung waren enthalten:

25,34 g Eiweiß	= 103,9	Cal.
29,6 g Fett	= 275,28	„
76,0 g Kohlenhydrat	= 311,6	„
In Summa also	690,8	Cal.

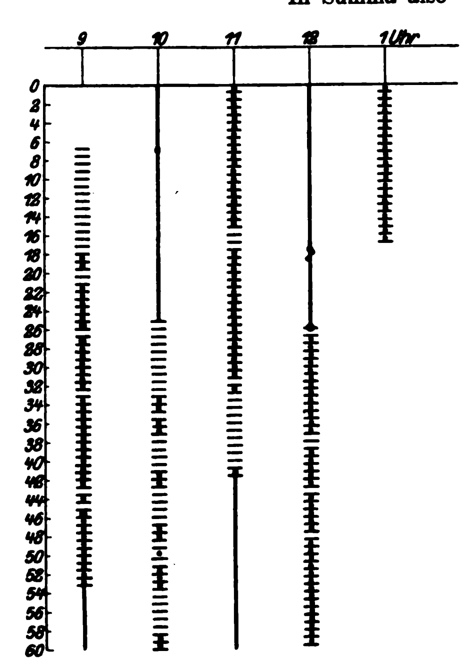


Fig. 12. Kind G. Bewegungskurve in Versuch 19 D zwischen 2 Mahlzeiten.

Hiervon wurden im Kote ausgeschieden (siehe Tabelle XVI auf S. 392)

$$\frac{0{,}966 \text{ g N}}{54} \cdot 24 = 0{,}42 \text{ g N}$$

oder 2,53 g Eiweiß = 10,4 Calorien und 4,78 g Fett = 44,6 Calorien. Von der aufgenommenen Nahrung gehen also 55 Calorien ab, die im Kot ausgeschieden wurden; es bleiben somit 636 Calorien, die umgesetzt bzw. angesetzt worden sind. Leider wurde in diesem Versuche der Brennwert des Harns nicht bestimmt. Aber auch wenn man diesen hoch in Rechnung setzt, ergibt sich, daß der Ansatz ein sehr hoher gewesen sein muß. Denn wenn wir den Brennwert des Harns mit 50 Calorien

einsetzen (25,34 g umgesetztes Eiweiß), bleiben uns 130 Calorien für den Ansatz pro Tag.

Über weitere Untersuchungen in der gleichen Richtung soll demnächst berichtet werden.

Protokolle zu den Respirationsversuchen.

Versuch 19 A vom 11. VII. 13.

(Zu Versuch 18.)

Versuchsobjekt: Heinrich G. Alter: 5 Monate.

Gewicht des Kindes	Gewicht d. Bekleidung und des Bettzeuges	Dauer des Versuchs	Ernährung
4740 g	3370 g	2 3/4 Std.	48 Std. gehungert.

Anfangswerte: Temp. 18,3°; Bar. korr. 756,3; Manometer + 0,03; Thermobar. + 0,08; Hygr. 79.

Endwerte: Temperatur 19,0°; Bar. korr. 757,6; Manometer + 6,48; Thermobar. + 2,00; Hygr. 81.

Anfangsvolumen . . 197,725 l bei 18,3° und 743,93 mm Hg = 181,362 l
Endvolumen . . . 197,725 l „ 18,3° „ 747,58 „ „ = 182,254 l

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffs
CO_2 = 0,07 %	0,25 %	CO_2 = 0,10 %
O_2 = 20,86 %	20,62 %	O_2 = 93,41 %
N_2 = 79,07 %	79,13 %	N_2 = 6,49 %
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden . . . . 37,832 l
Nachher „ . . . . 37,581 l
0,251 l

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,472 kg bei 19,1° u. 756,2 mm Hg
Endgewicht „ „ = 12,965 „ „ 19,0° „ 757,6 „ „
zugeführt = 7,726 l bei 0° u. 760,0 mm Hg
davon ab N_2 in O_2 = 0,502 l
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,007 l
dazu 0,251 l
Nettosauerstoffverbrauch . . . . 7,468 l
„ in 3 Std. 8,147 l = 11,642 g.

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,573 l = 0,8188 g.

Kohlensäurebilanz.

Vorher vorhanden . . 0,127 l Aus Lauge . . . . . . = 5,499 l CO_2
Nachher „ . . 0,456 l Gesamtkohlensäureprod. = 5,818 l
In 3 Stunden . . . . . = 6,347 l
0,319 l = 12,437 g

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,446 l
Respiratorischer Quotient . . . . = 0,779

Stickstoffbilanz.

Vorher vorhanden . .	143,403 l	N_2 aus O_2 (6,49 %) . . =	0,502 l
Nachher „ . .	144,216 l		
	0,813 l	Differenz . . . . . . =	+ 0,311 l

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 6,266 l = 12,278 g Kohlensäure und konsumierte pro Stunde und Quadratmeter 8,043 l = 11,493 g Sauerstoff. (Siehe Fig. 7 auf Seite 406).

Versuch 19 B vom 29. VII. 13.

Versuchsobjekt: Heinrich G. Alter: 5 1/2 Monate.

Gewicht des Kindes	Gewicht d. Bekleidung und des Bettzeuges	Dauer des Versuchs	Ernährung
5300 g	2740 g	3 Std.	Letzte Nahrung am 27. VII. abends 7h (48 Std. Hunger)

Anfangswerte: Temp. 19,0°; Bar. korr. 759,6; Manometer + 0,08; Thermobar. — 0,01; Hygr. 75.

Endwerte: Temperatur 19,0°: Bar. korr. 761,1; Manometer + 3,50; Thermobar. + 0,81; Hygr. 82.

Anfangsvolumen . . 197,835 l bei 19,0° und 747,47 mm Hg = 181,896 l
Endvolumen . . . . 197,835 l „ 19,0° „ 748,92 „ „ = 182,246 l

Analysen

	der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffs
CO_2	0,07 %	0,20 %	0,08 %
O_2	20,86 %	20,36 %	94,29 %
N_2	79,07 %	79,44 %	5,63 %
	100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden	37,943 l
Nachher „	37,106 l
	0,837 l

Anfangsgewicht des Gasometers =	4,409 kg	bei 18,8° u. 760,0 mm Hg
Endgewicht „ „ =	13,400 „	„ 19,0° „ 761,1 „ „
zugeführt =	8,245 l	bei 0° u. 760,0 mm Hg
davon ab N_2 in O_2 =	0,464 l	
„ „ CO_2 „ O_2 =	0,006 l	
dazu	0,837 l	
Nettosauerstoffverbrauch	8,611 l = 12,305 g.	

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,541 l = 0,774 g.

Kohlensäurebilanz.

Vorher vorhanden . .	0,127 l	Aus Lauge . . . . . . =	6,467 l CO_2
Nachher „ . .	0,364 l	Gesamtkohlensäureprod. =	6,704 l
	0,237 l		= 13,186 g

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,422 l
= 0,8261 g
Respiratorischer Quotient . . . . = 0,778

Stickstoffbilanz.

Vorher vorhanden . .	143,823 l	N_2 aus O_2 (5,63 %) . . =	0,464 l
Nachher „ . .	144,776 l		
	0,953 l	Differenz . . . . . =	+ 0,489 l

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und qm = 12,04 g CO_2
und konsumierte „ „ „ „ = 11,28 g O_2.

(Siehe Fig. 8 auf Seite 406.)

Versuch 19 C vom 30. VII. 13.

Versuchsobjekt: Heinrich G. Alter: 5 1/2 Monate.

Gewicht des Kindes	Gewicht d. Bekleidung und des Bettzeuges	Dauer des Versuchs	Ernährung
5300 g	2970 g	3 Std.	Letzte Nahrung am 27. VII. abends 7h (72 Std. Hunger)

Anfangswerte: Temp. 19,0°; Bar. korr. 757,0; Manometer + 0,04; Thermobar. + 0,04; Hygr. 73.

Endwerte: Temperatur 18,6°; Bar. korr. 757,4; Manometer + 2,90; Thermobar. — 0,56; Hygr. 80.

Anfangsvolumen . . 198,105 l bei 19,0° und 745,10 mm Hg = 181,555 l
Endvolumen . . . 198,105 l „ 19,0° „ 747,74 „ „ = 182,200 l

Analysen

der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffs
CO_2 = 0,07 %	0,18 %	CO_2 = 0,08 %
O_2 = 20,86 %	20,93 %	O_2 = 94,29 %
N_2 = 79,07 %	78,89 %	N_2 = 5,63 %
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden . . . . 37,872 l
Nachher „ . . . . 38,135 l
0,263 l

Anfangsgewicht des Gasometers	=	4,467 kg	bei 18,4° u. 756,8 mm Hg
Endgewicht „ „	=	13,707 „	„ 18,6° „ 757,4 „ „
zugeführt	=	8,452 l	bei 0° u. 760,0 mm Hg
davon ab N_2 in O_2	=	0,476 l	
„ „ CO_2 „ O_2	=	0,007 l	
davon ab		0,263 l	
Nettosauerstoffverbrauch		7,706 l = 11,012 g.	

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,485 l = 0,692 g.

Kohlensäurebilanz.

Vorher vorhanden . .	0,127 l	Aus Lauge . . . . . . =	5,890 l CO_2
Nachher „ . .	0,328 l	Gesamtkohlensäureprod. =	6,091 l
	0,201 l		= 11,935 g

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,383 l
= 0,751 g
Respiratorischer Quotient . . . . = 0,790

Stickstoffbilanz.

Vorher vorhanden . .	143,556 l	N_2 aus O_2 (5,63%) . . =	0,476 l
Nachher „ . .	143,736 l		
	0,180 l	Differenz . . . . . =	— 0,296 l

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und qm = 10,94 g CO_2
und konsumierte „ „ „ „ = 10,095 g O_2.

(Siehe Fig. 9 auf Seite 406.)

Versuch 19 D vom 5. VIII. 13.

Versuchsobjekt: Heinrich G. Alter: 5 3/4 Monate.

Gewicht des Kindes	Gewicht d. Bekleidung und des Bettzeuges	Dauer des Versuchs	Ernährung
5300 g	2760 g	4 Std. 10 Min.	Direkt vor dem Versuch 160 g N. M. S.[1])

Anfangswerte: Temp. 18,5°; Bar. korr. 757,5; Manometer + 0,06; Thermobar. + 0,04; Hygr. 67.

Endwerte: Temperatur 19,0°; Bar. korr. 757,1; Manometer — 0,40; Thermobar. + 2,55; Hygr. 100.

Anfangsvolumen . . 197,815 l bei 18,5° und 746,93 mm Hg = 182,054 l
Endvolumen . . . 197,815 l „ 18,5° „ 738,05 „ „ = 179,885 l

Analysen

	der Anfangsluft	der Endluft	des Sauerstoffs
CO_2 =	0,07%	0,40%	0,08%
O_2 =	20,86%	18,87%	94,29%
N_2 =	79,07%	80,73%	5,63%
	100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz.

Vorher vorhanden	37,976 l
Nachher „	33,945 l
	4,031 l

[1]) Buttermilch mit Sahnezusatz.

Anfangsgewicht des Gasometers	= 24,845 kg bei 109,38	Thermobarom.
Endgewicht „ „	= 39,240 „ „ 109,55	„
zugeführt	= 13,170 l bei 0° und 760 mm Hg	
davon ab N_2 in O_2	= 0,741 l	
„ „ CO_2 „ O_2	= 0,010 l	
dazu	4,031 l	
Nettosauerstoffverbrauch	16,450 l	
In 4 Stunden	15,792 l = 22,567 g.	

Sauerstoffverbrauch pro Kilogramm und Stunde = 0,745 l = 1,064 g.

Kohlensäurebilanz.

Vorher vorhanden . .	0,127 l	Aus Lauge	= 15,022 l CO_2
Nachher „ . .	0,719 l	Gesamtkohlensäureprod.	= 15,614 l
	0,592 l	In 4 Stunden = 14,990	= 29,372 g

Kohlensäure pro Kilogramm und Stunde = 0,707 l
= 1,385 g

Respiratorischer Quotient . . . . = 0,949

Stickstoffbilanz.

Vorher vorhanden . .	143,950 l	N_2 aus O_2 (5,63 %) . . =	0,741 l
Nachher „ . .	145,220 l		
	1,270 l	Differenz . . . . . =	+ 0,529 l

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und qm = 20,19 g CO_2
und konsumierte „ „ „ „ = 15,51 g O_2.

(Siehe Fig. 12 auf Seite 410.)

Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum.

Von

Peter Rona und Paul György.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 23. September 1913.)

I.

In einer früheren Arbeit glaubten wir den Beweis erbracht zu haben, daß die Gesamtmenge des Natriums im Serum sich praktisch in frei diffusiblem Zustande befindet. Es ist jedoch klar, daß das zu diesem Zwecke angewandte Verfahren der Kompensationsdialyse in dem vorliegenden Falle zur restlosen Entscheidung des Problems nicht die geeignete Methode ist. Es handelt sich ja hier nur um wenige Prozente der Gesamtmenge des Natriums, da neben sehr großen Mengen NaCl und dem Bicarbonat nur die Natrium-Eiweißverbindung in Betracht kommt, so daß die Kompensationsdialyse mit direkter Bestimmung des Gesamtnatriums die auf das indiffusible Natrium fallende Menge unaufgedeckt lassen könnte. Dazu kommt noch der Umstand, auf den Donnan[1]) die Aufmerksamkeit gelenkt hat, daß das Vorhandensein von nicht dialysierbaren, dissoziierten Verbindungen, wie z. B. der Natrium-Eiweißverbindung, die Verteilung auch der anderen in der Flüssigkeit vorhandenen Ionenarten auf beiden Seiten der für diese Ionenarten durchgängigen Membran stark zu beeinflussen vermag.

Um eine bessere Einsicht in die hier vorliegenden Verhältnisse zu gewinnen, haben wir uns zunächst einer im wesentlichen bereits von Zuntz, Loewy, Gürber angewandten in-

---

[1]) F. G. Donnan, Theorie der Membrangleichgewichte und Membranpotentiale bei Vorhandensein von nicht dialysierbaren Elektrolyten. Zeitschr. f. Elektrochem. **1911**, 572.

direkten Methode zur Beantwortung der Frage des „indiffusiblen Alkalis“ im Serum bedient. Diese besteht im Prinzip darin, daß die titrierbare Alkalescenz in der Außenflüssigkeit bei der Dialyse des Serums gegen stehendes Wasser (oder gegen eine Bicarbonatlösung) titrimetrisch bestimmt wird, und zwar einmal unter Benutzung des unveränderten (mit der atmosphärischen Luft in Austausch stehenden) Serums, und zweitens mit einem Serum, durch das eine Zeitlang Kohlensäure durchgeleitet worden ist. Daß bei dieser Titration der Außenflüssigkeit (neben äußerst geringen Mengen Natriumphosphats) nur das saure (Bi-) Carbonat und nicht etwa ein Gemenge von primärem und sekundärem Carbonat titriert wird, beweist die im Serum vorhandene $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration zur Genüge. Nach dem Massenwirkungsgesetz ist

$$\frac{[H^{\cdot}][CO_3'']}{[HCO_3']} = k$$

wobei[1]) $k = 6 \cdot 10^{-11}$ und $[H^{\cdot}] = 0{,}3 \cdot 10^{-7}$.

Daraus folgt, daß das Verhältnis vom primären zum sekundären Carbonat etwa $0{,}5 \cdot 10^{-3}$ ist, also letzteres nur den 500. Teil des ersteren bildet, eine analytisch verschwindend kleine Menge. Dementsprechend ist der Phenolphthaleintiter der Außenflüssigkeit gleich Null und die Titration der (gebundenen) Kohlensäure muß mit Methylorange als Indicator ausgeführt werden. Erst beim vorsichtigen Veraschen (resp. Verkohlen) der Flüssigkeit tritt infolge der Umwandlung des primären in das sekundäre Carbonat im wässerigen Auszug der Asche ein Phenolphthaleintiter auf, der aber, da infolge des mäßigen Glühens ein Gemenge von primärem und sekundärem Carbonat vorliegt, weniger als die Hälfte des Methylorangetiters beträgt. — Die mit $^{n}/_{10}$-Salzsäure gefundene Gesamtalkalescenz wurde in der Arbeit als Bicarbonat (HCO_3') berechnet.

Wie bekannt, zeigen frühere Arbeiten verschiedener Autoren in Übereinstimmung mit der Zuntzschen Theorie eine Zunahme der Bicarbonatmenge der Außenflüssigkeit bei der Dialyse von mit Kohlensäure behandeltem Serum gegenüber der bei der Dialyse

---

[1]) Vgl. Shields, Zeitschr. f. physikal. Chem. 12, 174, 1893. — McCoy, Amer. Chem. Journ 29, 437, 1903. — Auerbach und Pick, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamt 38, 243, 1911.

von normalem Serum. Das Natrium aus der Eiweißverbindung vereinigt sich dabei nach dieser Theorie mit der Kohlensäure zu Natriumbicarbonat und wird so diffusibel.

Die wichtigste Fehlerquelle der in unserer früheren Arbeit angewandten Kompensationsdialyse mit direkter Bestimmung des Natriums fällt bei dieser indirekten Methode, bei der das Natrium nicht direkt bestimmt wird, weg, nämlich, wie oben bereits erwähnt, der Umstand, daß neben den großen Mengen NaCl und $NaHCO_3$ die kleinen Mengen von Natriumeiweiß leicht übersehen werden können. Andererseits bergen die älteren Arbeiten von Zuntz und Loewy auch mannigfaltige Fehlerquellen in sich, so vor allem die Titration stark eiweißhaltiger Flüssigkeiten, die namentlich bei nicht genügender Berücksichtigung der passenden Indicatoren zu groben Fehlern Veranlassung geben kann. Gürber bestimmt den Carbonatgehalt des Serums nach (wenn auch vorsichtiger) Veraschung resp. Verkohlung desselben, ein Verfahren, das — wie wir uns überzeugen konnten — unter allen Umständen zu irreführenden Resultaten führen kann.

Demnach war das Bestreben gerechtfertigt, die von den erwähnten Autoren ermittelten Ergebnisse durch neue Versuche zu erhärten. Wir mußten ferner auch prüfen, wie weit die von Donnan gemachten Überlegungen uns zwingen, eine Revision der früheren Annahmen über das „diffusible Alkali" vorzunehmen.

Auf Grund thermodynamischer Überlegungen weist Donnan nach, daß man zu ganz eigenartigen Verteilungsgleichgewichten kommt, wenn man durch eine Membran ein Salz, dessen eines Ion nicht dialysabel ist, wie dies bei den Eiweißsalzen der Fall ist, von einem gewöhnlichen Elektrolyten trennt. Vollständige Dissoziation und gleiche Lösungsvolumina auf beiden Seiten der Membran vorausgesetzt, entsteht ein Diffusionsgleichgewicht in dem Sinne, daß „wenn auf einer Seite einer Membran eine elektrolytisch dissoziierte Substanz mit nicht dialysierbarem Anion in genügend großer, relativer Konzentration vorhanden ist, sie das Kation eines zweiten, ganz verschiedenen (und sonst völlig dialysierbaren) Elektrolyten scheinbar stark ‚anziehen', das Anion desselben in gleichem Maße scheinbar ‚vertreiben' wird". Es ist nun möglich, daß durch die Wirkung von Kohlensäure im Serum in relativ großer

Menge Carbaminoverbindungen entstehen, die dann dissoziert die Rolle der nicht dialysierenden Elektrolyte einnehmen können. Dies könnte dann zu eigenartigen Verteilungsgleichgewichten führen, wie es uns folgende theoretische Erwägung zu zeigen geeignet ist.

Machen wir bei der Dialyse des CO_2-Serums folgende vereinfachte Voraussetzung

Ursprünglicher Zustand					Gleichgewichtszustand						
innen				außen	innen				außen		
$H^{\cdot}$	R'	$Na^{\cdot}$	HCO_3'	—	$H^{\cdot}$	R'	$Na^{\cdot}$	HCO_3'	$H^{\cdot}$	$Na^{\cdot}$	HCO_3'
c_1	c_1	c_2	c_2	—	$c_1 - x$	c_1	$c_2 - y$	$c_2 - z$	x	y	z
(1)				(2)	(1)				(2)		
									$z = x + y$		

$H^{\cdot}$ soll das dialysable Kation, R' das indiffusible Eiweißanion der dissozüerten Eiweiß-Carbaminoverbindung bedeuten. Die Membran ist also für das Eiweißanion $R^{\cdot}$ (wie auch für die undissoziierte Verbindung HR) undurchlässig, für alle anderen hier in Betracht kommenden Ionen durchlässig. c_1, c_2, x, y, z sind die entsprechenden molaren Konzentrationen. „Bei dem entstandenen Gleichgewicht ist die für die isotherme umkehrbare Überführung eines Mols $Na^{\cdot}$ von (2) nach (1) nötige Arbeit ebenso groß wie die durch die entsprechende isotherme, umkehrbare Überführung eines Mols HCO_3' gewinnbare Arbeit. Mit anderen Worten, wir betrachten die folgende unendlich kleine isotherme und umkehrbare Änderung des Systems

$$\delta n \text{ Mol } Na^{\cdot}\ (2) \longrightarrow (1)$$
$$\delta n \text{ Mol } HCO_3'\ (2) \longrightarrow (1)$$

Die hierdurch gewinnbare Arbeit ist Null, daher

$$\delta n\, R\, T \log \frac{[Na^{\cdot}]_2}{[Na^{\cdot}]_1} + \delta n\, R\, T \log \frac{[HCO_3']_2}{[HCO_3']_1} = 0$$

oder

$$[Na^{\cdot}]_2 [HCO_3']_2 = [Na^{\cdot}]_1 [HCO_3']_1; \quad \frac{[Na^{\cdot}]_1}{[Na^{\cdot}]_2} = \frac{[HCO_3']_2}{[HCO_3']_1},$$

wo die eckigen Klammern molare Konzentrationen bedeuten.“ Wenden wir diese Gleichung auf unseren Fall an, so haben wir bei Einsetzung der entsprechenden Werte:

$$z \cdot y = (c_2 - y)(c_2 - z); \quad z + y = c_2; \quad y = c_2 - z.$$

Entsprechend den obigen thermodynamischen Überlegungen ergibt sich noch

$$\frac{[H^{\cdot}]_1}{[H^{\cdot}]_2} = \frac{[HCO_3']_2}{[HCO_3']_1}$$

und

$$\frac{c_1 - x}{x} = \frac{z}{c_2 - z}; \quad \frac{c_1 - (z - y)}{z - y} = \frac{z}{c_2 - z}; \quad \frac{c_1 + c_2 - 2z}{2z - c_2} = \frac{z}{c_2 - z};$$

$$z = \frac{c_2(c_1 + c_2)}{c_1 + 2c_2}; \quad \frac{z}{c_2} = \frac{c_1 + c_2}{c_1 + 2c_2}; \quad \frac{c_2}{z} = \frac{c_1 + 2c_2}{c_1 + c_2};$$

$$\frac{c_2}{z} - 1 = \frac{c_2 - z}{z} = \frac{c_1 + 2c_2}{c_1 + c_2} - 1 = \frac{c_2}{c_1 + c_2}.$$

$$\frac{z}{c_2 - z} = \frac{HCO_3'{}_{\text{außen}}}{HCO_3'{}_{\text{innen}}} = \frac{c_1 + c_2}{c_2} = r > 1,$$

Versuchsbedingung ist, daß das Eiweiß als Anion figuriert.

Falls c_1 (also die Konzentration des Eiweißanions) nicht klein im Verhältnis zu c_2, den anderen Ionenarten (Na, HCO_3), im Serum ist, ist also eine Verteilung des HCO_3' außerhalb und innerhalb der Dialysiermembran in dem Sinne vorhanden, daß die Konzentration des HCO_3 außerhalb der Dialysiermembran größer ist als innerhalb derselben. Ob die Einleitung der CO_2 im Serum die für diese Verschiebung erforderlichen Bedingungen schafft, ist an und für sich fraglich. Jedenfalls könnte die Entstehung von stärker sauren Eiweiß-Carbaminoverbindungen in nennenswerten Mengen zu der angenommenen Verschiebung führen. Nach dieser Überlegung sowohl als auch nach der bekannten Zuntzschen Auffassung, nach der das Na vom Eiweiß durch die CO_2 abgespalten wird, wird die Bicarbonatmenge in der Außenflüssigkeit bei der Dialyse von CO_2-Seren zunehmen; diese Zunahme läßt sich also mit beiden Anschauungen vereinigen. Ein Unterschied besteht jedoch darin, daß nach der Zuntzschen Auffassung nach der Kohlensäuredurchleitung die Bicarbonatmenge innerhalb und außerhalb der Membran gleich sein wird, während dies nach den Donnanschen Überlegungen nicht der Fall sein muß.

Bevor wir dieser Frage experimentell nähergetreten sind, stellten wir noch einige Versuche über die Menge des HCO_3' in der Außenflüssigkeit bei der Dialyse von normalem und von mit CO_2 behandeltem Serum an.

In diesen Versuchen konnten wir in Übereinstimmung mit den Angaben der erwähnten Autoren finden, daß die Bicarbonatmenge der Außenflüssigkeit größer ist, wenn das mit Kohlensäure behandelte Serum, als wenn das normale Serum dialysiert. Dies mögen zunächst die folgenden Versuchsreihen illustrieren, in denen die entsprechenden Serumproben (frisches Pferdeserum, je 70 ccm) gegen eine Außenflüssigkeit (je 50 ccm von genau bekannter Bicarbonatmenge) bei Zimmertemperatur dialysierten[1]). Die Titration des Bicarbonats erfolgte mit $^n/_{10}$-HCl. Die Zahlen bedeuten HCO_3' in Grammen[2]). Die Bestimmung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration der Flüssigkeiten erfolgte stets auf elektrometrischem Wege. Bei den Dialysen wurden sowohl Außen- wie Innenflüssigkeit von einer hohen Schicht Toluol bedeckt.

Versuch 1.

(Dauer der Dialyse 24 Stunden.)

Analyse der Außenflüssigkeiten			Berechneter Wert im	
vor der Dialyse	nach der Dialyse gegen normales Serum	nach der Dialyse gegen CO_2-Serum	normalen Serum	CO_2-Serum
%	%	%	%	%
a) 0,1071 b) 0,1071	a) 0,1493 b) 0,1485	a) 0,1823 b) 0,1826	0,1787	0,2864

a) und b) sind Parallelbestimmungen.

Kohlensäuredurchleitung $^1/_2$ stündig.

Die Berechnung erfolgt durch die Gleichung

$$\frac{b(A+B)-aB}{A},$$

wenn A Teile gegen B Teile Außenflüssigkeit dialysieren und der Prozentgehalt der Außenflüssigkeit vor der Dialyse a, nach Abschluß der Dialyse b ist.

---

[1]) Als Dialysierhülsen wurden stets Blinddärme von jungen Schafen benutzt.

[2]) Von den verhältnismäßig geringen Phosphatmengen wurde abgesehen, was wir schon deshalb tun konnten, da es sich bei unseren Untersuchungen nicht um absolute Größen, sondern nur um Vergleichswerte bei einer ev. Zunahme der titrierbaren Alkalescenz des Serums handelt, die wir mit den Bicarbonaten ausdrücken können.

Versuch 2.

(Dauer der Dialyse 36 Stunden.)

	Analyse der Außenflüssigkeiten			Berechneter Wert im	
	vor der Dialyse	nach der Dialyse gegen normales Serum	nach der Dialyse gegen CO_2-Serum [1]	normalen Serum	CO_2-Serum
	%	%	%	%	%
I	a) 0,1165 b) 0,1183	a) 0,1580 b) 0,1592	a) 0,1806 b) 0,1800	0,1998	0,2257
II	a) 0,2288 b) 0,2300	a) 0,2129 b) 0,2153	a) 0,2227 b) 0,2238	0,1988	0,2255

a) und b) sind Parallelbestimmungen.

Kohlensäuredurchleitung $^1/_4$ stündig.

Die H'-Ionenkonzentration der Außenflüssigkeit betrug in Probe I nach der Dialyse gegen normales Serum $0{,}29 \cdot 10^{-7}$, nach der Dialyse gegen CO_2-Serum $0{,}82 \cdot 10^{-7}$; in Probe II nach der Dialyse gegen normales Serum $0{,}25 \cdot 10^{-7}$, nach der Dialyse gegen CO_2-Serum $0{,}54 \cdot 10^{-7}$.

Versuch 3.

(Dauer der Dialyse 24 Stunden.)

	Analyse der Außenflüssigkeiten			Berechneter Wert im	
	vor der Dialyse	nach der Dialyse gegen normales Serum	nach der Dialyse gegen CO_2-Serum	normalen Serum	CO_2-Serum
	%	%	%	%	%
I	0,1275	0,1751	0,1922	0,2091	0,2384
II	0,2489	0,2239	0,2403	0,2061	0,2342

Kohlensäuredurchleitung 1 stündig.

Die H'-Ionenkonzentration in der Außenflüssigkeit I betrug nach der Dialyse gegen das CO_2-Serum $0{,}20 \cdot 10^{-6}$ (H'-Ionenkonzentration des entsprechenden CO_2-Serums nach der Dialyse $0{,}18 \cdot 10^{-6}$). Die H'-Ionenkonzentration in der Außenflüssigkeit II betrug nach der Dialyse gegen das normale Serum $0{,}12 \cdot 10^{-7}$, gegen das CO_2-Serum $0{,}14 \cdot 10^{-6}$. (Die H'-Ionenkonzentration des entsprechenden CO_2-Serums $0{,}16 \cdot 10^{-6}$.)

[1] In dieser Probe dialysierten 50 ccm Serum gegen 50 ccm Außenflüssigkeit.

Versuch 4.
(40stündige Dialyse.)

Analyse der Außenflüssigkeiten			Berechneter Wert im	
vor der Dialyse	nach der Dialyse gegen normales Serum	nach der Dialyse gegen CO_2-Serum	normalen Serum	CO_2-Serum
%	%	%	%	%
—	0,0946	0,1153	0,1892	0,2306

Dialyse: 50 ccm Serum gegen 50 ccm destilliertes Wasser.
Kohlensäuredurchleitung $^1/_2$stündig.

H'-Ionenkonzentration nach der Dialyse im normalen Serum $0{,}50 \cdot 10^{-7}$, im CO_2-Serum $0{,}34 \cdot 10^{-6}$[1]).

Diese Versuche zeigen, daß bei den Dialysen, die mit Kohlensäuresera durchgeführt worden waren, stets größere Mengen Bicarbonat im Dialysat (Außenflüssigkeit) gefunden worden sind als bei der Dialyse des normalen Serums. Nach der Zuntzschen Theorie deuten die Resultate — wie aus den berechneten Werten leicht ersichtlich ist — auf eine Menge „indiffusibles Natrium", die ungefähr 20 bis 30% der Bicarbonatmenge des Serums (normales Serum) beträgt, und die durch die Wirkung der Kohlensäure dialysabel wurde und so in der Außenflüssigkeit erscheinen konnte. Dies entspricht 5 bis 7% des Gesamtnatriums, das also nach der obigen Annahme im normalen Serum an Eiweiß gebunden ist.

Nach der Zuntzschen Theorie müßte man nun bei der Dialyse mit CO_2-Serum Gleichheit der Bicarbonatwerte in der Innen- und Außenflüssigkeit finden.

Die ersten zur Prüfung des Sachverhaltes angestellten Versuche schienen nicht zugunsten der Zuntzschen Auffassung zu sprechen. Bei diesen hatten wir die Bicarbonatmenge der Innenflüssigkeit (Serum) nach sehr vorsichtiger Veraschung resp. Verkohlung derselben durch Titration mit 0,1 n-HCl bestimmt. Nach den Ergebnissen dieser Methodik erhielten wir jedoch nach der Dialyse beim normalen Serum gut übereinstimmende

[1]) Wie aus der H'-Ionenkonzentration ersichtlich ist, wird das Serum nach Durchleitung von CO_2 saurer, was natürlich in keinem Widerspruch mit der gleichzeitigen Zunahme der titrierbaren Alkalescenz steht.

Werte in der Innen- und Außenflüssigkeit, während wir bei der Dialyse von CO_2-Serum stets mehr Bicarbonat außen als innen fanden. Dies zeigen die folgenden Versuche.

Versuch 5.
(24stündige Dialyse.)

	Außenflüssigkeit vor der Dialyse	HCO₃'-Gehalt nach der Dialyse gegen normales Serum		HCO₃'-Gehalt nach der Dialyse gegen CO₂-Serum	
		in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit	in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit
	%	%	%	%	%
I	0,1568	0,1604[1]	0,1586	0,1769	0,1415
II	0,2788	0,2166	0,2112	0,2391	0,1824

Kohlensäuredurchleitung $^1/_4$ stündig.

Versuch 6.
(48stündige Dialyse.)

	Außenflüssigkeit vor der Dialyse	HCO₃'-Gehalt nach der Dialyse gegen normales Serum		HCO₃'-Gehalt nach der Dialyse gegen CO₂-Serum	
		in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit	in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit
	%	%	%	%	%
I	—	0,0976	0,1037	0,1171	0,0952
II	—	0,0976	0,1047	0,1171	0,0946

Kohlensäuredurchleitung 40 Minuten. I und II sind in diesem Versuch Parallelbestimmungen. Dialyse: 50 ccm Serum gegen 50 ccm destilliertes Wasser.

Versuch 7.
(44stündige Dialyse.)

	HCO₃-Gehalt nach der Dialyse gegen normales Serum		HCO₃-Gehalt nach der Dialyse gegen CO₂-Serum	
	in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit	in der Außenflüssigkeit	in der Innenflüssigkeit
	%	%	%	%
I	0,0854	0,0854	0,0933	0,0793
II	0,0671	0,0671	0,0738	0,0677

[1]) Die angegebenen Zahlen sind hier wie in der folgenden Tabelle die nach der vorsichtigen Veraschung resp. Verkohlung des Dialysats gewonnenen.

In Probe I dialysieren 50 ccm Serum gegen 50 ccm destilliertes Wasser, in II 50 ccm Serum + 10 ccm destilliertes Wasser gegen 60 ccm destilliertes Wasser. In den Innenflüssigkeiten, besonders in Probe II, ist im Verlaufe der Dialyse eine Trübung aufgetreten.

Kohlensäuredurchleitung 40 Minuten.

HCO_3-Gehalt des normalen Serums 0,1769 $^0/_0$, des CO_2-Serums 0,1805 $^0/_0$. $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des normalen Serums vor der Dialyse $0{,}25 \cdot 10^{-7}$, nach der Dialyse $0{,}72 \cdot 10^{-7}$. $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des CO_2-Serums vor der Dialyse $0{,}60 \cdot 10^{-6}$, nach der Dialyse $0{,}45 \cdot 10^{-6}$.

Doch können diese Versuche nicht entscheidend in der Frage sein, da die Bicarbonatbestimmung in eiweißreichen Flüssigkeiten, wie das Serum ist, durch Veraschung derselben immer, auch dann, wenn man äußerst vorsichtig glüht, mit großen Fehlern verbunden ist: ein Teil des Bicarbonats geht während der Erhitzung verloren, indem das aus dem Eiweiß entstehende SO_4, wie bekannt, den Carbonatgehalt herabdrückt. Es ist klar, daß dadurch die Analysenergebnisse in dem beobachteten Sinne verschoben werden und so den Tatsachen nicht entsprechende Verhältnisse vorgetäuscht werden könnten.

Eine eindeutige Bestätigung der Zuntzschen Auffassung konnte hingegen gegeben werden, als wir die Bicarbonatmengen im Serum mit Umgehung der Veraschung in den Ultrafiltraten des normalen und des CO_2-Serums bestimmten. Zu diesem Zwecke wurde das Serum[1]) mit destilliertem (bzw. beim CO_2-Serum mit Kohlensäure gesättigtem) Wasser aufs Vierfache verdünnt und unter einem Druck von 8 Atmosphären durch 6 $^0/_0$ige Kollodiumfilter von Schleicher & Schüll im Bechholdschen Apparat ultrafiltriert. Die eiweißfreie Flüssigkeit wurde in hohen, schmalen Zylindern aufgefangen, um eine ev. Verdunstung während des Filtrierens zu verhüten. Das Filtrat wurde stets mit Sulfosalicylsäure auf Eiweißfreiheit geprüft. Der konstante Druck wurde beim normalen Serum mittels einer Sauerstoffbombe, beim CO_2-Serum durch eine CO_2-Bombe erzeugt. Es wurden je 20 ccm Filtrat (= 5 ccm Serum) mit 0,1 n-Salzsäure gegen Methylorange titriert; für das Volumen der dem Ultrafiltrat mangelnden Eiweißkörper sind

[1]) Stets wurde Pferdeserum benutzt.

$7\,^0/_0$ in Rechnung gebracht worden. Die Alkalescenz wurde als Bicarbonat (HCO_3') in g-$^0/_0$ berechnet. Die Versuchsergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

	HCO_3'-Gehalt im	
	normalen Serum $^0/_0$	CO_2-Serum $^0/_0$
1	0,1955[1]	0,3074
2	0,1847	0,3360
3	0,1807	0,3130
4	0,1647	0,3731[2]
5	0,1537	0,2778
6	0,2087	0,3294
7	0,1977	0,2778
8	0,1976	0,3250
9	0,1911	0,3294

Die Versuche zeigen also, daß im Ultrafiltrat des CO_2-Serums die titrierbare Alkalescenz stets größer ist als im Ultrafiltrat des normalen Serums.

Man hätte vielleicht daran denken können, daß etwa durch die Kohlensäure eine Verschiebung der Ionen in dem Sinne stattfindet, daß Cl'-Ionen an das (durch die Ansäuerung kathodisch gewordene) Eiweiß gebunden werden und das so freigewordene $Na^{\cdot}$ sich mit der Kohlensäure zu Bicarbonat verbindet. Da jedoch bei der durch die Kohlensäuredurchleitung bewirkten Erhöhung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration eine Umladung der Eiweißkörper des Serums noch nicht erfolgt, so ist dieser Anschauung der theoretische Boden entzogen. In der Tat konnten wir bei den Chloranalysen der Ultrafiltrate einen sicheren Unterschied zwischen dem Chlorgehalt im Ultrafiltrat des normalen und in dem des CO_2-Serums nicht finden.

	Cl'-Gehalt im	
	normalen Serum $^0/_0$	CO_2-Serum $^0/_0$
1	0,3191	0,2978
2	0,3170	0,3107
3	0,3118	0,3144
4	0,3067	—
5	0,3323	0,2940
6	0,2991	0,3091

[1]) Die Werte sind etwas zu hoch, da die Phosphate mittitriert werden.

[2]) Diese Zahl ist wahrscheinlich zu hoch.

Bei der Beurteilung dieser Zahlen darf wohl nicht vergessen werden, daß die mit dem Eiweiß ev. vorhandene Chlormenge im besten Falle nur einen geringen Bruchteil der Gesamtchlormenge ausmacht und bei der Bestimmung der Gesamtchlormenge dem analytischen Nachweis entzogen werden kann. Immerhin geben auch die Analysen keinerlei Anhaltspunkte für eine Cl-Verschiebung im oben dargelegten Sinne (Nr. 5 vielleicht ausgenommen).

Wir können die nennenswerte Zunahme an titrierbarer Alkalescenz in den Ultrafiltraten der CO_2-Sera nur durch Annahme der Zuntzschen Theorie der Eiweiß-Alkaliverbindung erklären. Die Zunahme beträgt 50 bis 60% der ursprünglichen Bicarbonatmenge, was an Natrium etwa 10% (5 bis 15%) der Gesamtnatriummenge entspricht. Nach den Ergebnissen der Ultrafiltration müssen wir also annehmen, daß 10 bis 15% der Gesamtnatriummenge im normalen Serum an Eiweiß gebunden ist; wengstens wird durch die Wirkung der CO_2 die obige Menge davon diffusibel.

Da offenbar nicht bloß durch Kohlensäure, sondern auch und noch eher durch eine stärkere Säure das Natrium aus der Eiweißverbindung freigemacht werden kann, versuchten wir noch auf einem anderen Wege, die Frage des nicht diffusiblen Natriums zu erforschen.

70 ccm normales Serum + 10 ccm Wasser ließen wir gegen 80 ccm destilliertes Wasser dialysieren; parallel damit wurde eine Dialyse angesetzt mit 70 ccm normalem Serum + 10 ccm n-HCl gegen 80 ccm destilliertes Wasser. Die Dialysen dauerten im Mittel 24 Stunden. Der Übertritt des Wassers ins normale Serum betrug nur einige Kubikzentimeter; etwas größer war die Wasserverschiebung bei den Dialysen mit HCl-Serum. Ein Abbau der Serumeiweißkörper fand während der kurzdauernden Dialyse bei der relativ niederen Temperatur (gewöhnlich Zimmertemperatur, in einigen Versuchen Eisschranktemperatur) nicht statt; die Biuretreaktion der Außenflüssigkeit war am Schluß der Dialysen stets negativ. Nach Beendigung der Dialysen wurde in den mit normalem Serum in je 10 ccm Außenflüssigkeit die titrierbare Alkalescenz mit 0,1 n-HCl (Methylorange) und die Chlormenge nach dem Volhardschen Verfahren mit 0,1 n-Lösungen bestimmt; bei den Dialysen mit Säure-

Serum wurden in je 10 ccm Außenflüssigkeit die freie Säure (Salzsäure) mit 0,1 n-NaOH und die Gesamtchlormenge nach dem Volhardschen Verfahren bestimmt. Die Berechnung erfolgte dann in der folgenden Weise: a soll die gefundene Bicarbonatmenge, b die gefundene Chlormenge bei den Dialysen mit normalem Serum in 0,1 n ccm in je 10 ccm Außenflüssigkeit bedeuten; c soll die gefundene freie Säuremenge, d die Gesamtchlormenge bei den Dialysen mit Säure-Serum unter den obigen Bedingungen bedeuten, ebenfalls in 0,1 n ccm: dann entspricht $2(a+b)$ der Gesamtnatriummenge[1]) des normalen Serums in 10 ccm desselben (von den geringen Mengen KCl usw., die mitberechnet sind, kann abgesehen werden); $2(d-c)$ entspricht seinerseits der Gesamtnatriummenge des Säure-Serums in 10 ccm desselben. Diese Überlegung kann an folgendem Beispiel klargemacht werden.

$$a: 1{,}50; \quad b: 4{,}77; \quad 2(a+b) = 12{,}54;$$
$$c: 1{,}30; \quad d: 9{,}00; \quad 2(d-c) = 15{,}40.$$

$2(d-c) - 2(a+b)$ gibt uns die Natriummenge, die durch die Säure vom Eiweiß abgespalten wurde. Im obigen Fall 2,86.

In allen diesbezüglichen Versuchen haben wir konstatieren können, daß die Säure Natrium vom Eiweiß abspaltet, das dann so diffusibel wird und durch die obige Methode bestimmt werden kann. Das gefundene Plus an Natrium, in 0,1 n ccm ausgedrückt, ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nr. 1	2,84	Nr. 7	3,00
„ 2	2,88	„ 8	3,10
„ 3	2,60	„ 9	3,30
„ 4	2,54	„ 10	3,30
„ 5	2,40	„ 11	3,10
„ 6	3,30	„ 12	2,40

Bei der Unmöglichkeit, den Verlauf der Versuche ganz gleichmäßig zu gestalten, ist nicht auf absolute Zahlen, sondern

[1]) Natürlich nur die Gesamtmenge des diffusiblen Natriums. (Die anderen Kationen — K, Ca, NH_3 — sind gegenüber dem Natrium in so geringer Menge vorhanden, daß sie im vorliegenden Falle zur Beurteilung der Verhältnisse außer Betracht gelassen werden können und das gesamte „Alkali" auf Natrium bezogen werden kann.)

nur auf die Vergleichswerte und deren Größenordnung Gewicht zu legen. Aus dem gefundenen Plus an frei diffusiblem Natrium berechnet sich die Menge an diesem zu etwa 15 bis 20% der Gesamtnatriummenge; nach diesen Versuchen wären also etwa 15% Natrium der Gesamtnatriummenge im normalen Serum in indiffusibler Form vorhanden[1]), und bezogen auf das „Serumalkali" der früheren Autoren, d. h. auf die Natriumverbindungen mit Ausschluß von NaCl, etwa 50 bis 70%, ein Wert, dessen Größenordnung sehr gut mit dem von Hamburger[2]) auf ganz anderem Wege gefundenen übereinstimmt.

Die Tatsache, daß bei den Versuchen, bei denen die Kohlensäure die Abspaltung des „nicht diffusiblen Natriums" bewirkt hat, kleinere Mengen von diesem gefunden wurden als bei dem Verfahren, wo eine stärkere Säure (HCl) die Abspaltung des nicht diffusiblen Natriums veranlaßt hat, kann in folgenden Verhältnissen ihre Erklärung finden. Das bei der Einleitung von Kohlensäure ins Serum sich bildende Carbaminoprotein wird zum größten Teil als undissoziierte freie Säure, zu einem kleinen als dissoziiertes (aber nicht dialysierbares) Natriumsalz im Serum vorhanden sein. Ein Teil des Natriums wird demnach noch vom Carbamino-Anion „festgehalten" und undiffusibel gemacht, während bei der Abspaltung mit Salzsäure auch dieser Teil des Natriums in diffusibler Form erscheint.

Es muß noch auf die leichte Reversibilität des ganzen Prozesses der CO_2-Bindung hingewiesen werden. Wie nachfolgende Versuche zeigen, verschwindet die Zunahme der titrierbaren Alkalescenz im CO_2-Serum nach Luftdurchleitung, und es treten wieder die normalen Verhältnisse auf.

---

[1]) Bildung von nicht diffundierbaren Abbauprodukten bei der angewandten Säuremenge, der Dauer der Dialyse und der niedrigen Temperatur ist nicht anzunehmen; sie hätte auch wohl infolge stärkerer Alkalibindung zu einer Verminderung an diffusiblem Natrium geführt. In der Tat wurde auch bei Anwendung größerer Säuremengen (z. B. 15 ccm n-HCl auf 70 ccm Serum) ein geringeres Plus an Na gefunden als in der obigen Versuchsreihe In mehreren Versuchen wurden auch direkte Natrium- (bzw. Na + K-) Bestimmungen in den Außenflüssigkeiten ausgeführt, wobei ebenfalls eine analytisch sicher nachweisbare Zunahme der Natriummenge festgestellt werden konnte.

[2]) Vgl. Arch. f. Physiol. 1898, 1. — Vgl. auch J. Snapper, diese Zeitschr. 51, 62, 1913.

Versuch 1. Durch das Serum wird längere Zeit CO_2 durchgeleitet, mit CO_2 gesättigtem, destilliertem Wasser auf das vierfache Volumen verdünnt und ultrafiltriert. Alkalescenz in 20 ccm Ultrafiltrat beträgt in 0,1 n-HCl (Methylorange) 3,05 ccm. Durch dasselbe mit CO_2 gesättigte Serum wird ca. 1 Stunde lang Luft durchgeleitet und wieder ultrafiltriert. Die titrierbare Alkalescenz beträgt nun 1,80 ccm.

Versuch 2. Anordnung wie in Versuch 1. Titrierbare Alkalescenz des Ultrafiltrats vom CO_2-Serum 2,96 ccm, des Ultrafiltrats desselben Serums nach Luftdurchleitung 1,88 ccm.

Versuch 3. Anordnung wie oben. Titrierbare Alkalescenz des Ultrafiltrats vom CO_2-Serum 2,95 ccm, des Ultrafiltrats desselben Serums nach Luftdurchleitung 1,90 ccm.

Versuch 4. Ultrafiltrat des vierfach verdünnten normalen Serums zeigt in 20 ccm eine titrierbare Alkalescenz von 1,4 ccm; nach CO_2-Durchleitung 2,53 ccm; nach Luftdurchleitung 1,5 ccm.

Bereits 1902 hat Hamburger[1]) gezeigt, daß im Blute die durch Zufuhr von Kohlensäure bedingten Verschiebungen durch Austreiben der Kohlensäure wieder rückgängig gemacht werden können, was auf einen Anionenaustausch durch die Oberfläche der Blutkörperchen zurückgeführt worden ist. Wir haben hier denselben Effekt, ohne jedoch zur Erklärung den Einfluß einer selektiv wirkenden Membran heranziehen zu können, da ja eine solche im Serum überhaupt nicht vorhanden ist. Ungezwungen werden aber die Verhältnisse gemäß dem Massenwirkungsgesetz erklärt durch den Rückgang der positiven Aufladung der Serumproteine nach Austreibung der CO_2 und die Reversibilität der Carbaminoproteinbildung[2]).

Das Ergebnis dieser Untersuchungen ist also, daß die Zuntzsche Auffassung über den Mechanismus der Entstehung des diffusiblen Natriums zu Recht besteht. Es ist fast über-

---

[1]) Vgl. Hamburger und van Lier, Arch. f. (Anat.) u. Physiol. **1902**, 492; Hamburger und van der Schorff, ebenda, Suppl. 119. — Vgl. auch Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. **102**, 196, 1904. — Vgl. ferner Koeppe, Arch. f. d. ges. Physiol. **67**, 189, 1897; Gürber, Sitzungsber. d. physik.-med. Ges. Würzburg **1895**, 129.

[2]) Vgl. hierzu auch Höber, Physik. Chem. der Zelle, 3. Aufl., S. 496, 1911.

flüssig darauf hinzuweisen, daß die Gültigkeit der von Donnan gegebenen Überlegungen hierdurch keineswegs tangiert wird. Nur bei der Annahme, daß bei der CO_2-Durchleitung nennenswerte Mengen stark dissoziierter Carbamino-Verbindungen entstehen, waren die Bedingungen für eine Ionen-Verschiebung im oben (S. 420) dargelegten Sinne vorhanden; sie fehlen jedoch, falls diese Verbindungen im Serum in relativ geringer Menge zugegen sind und sie eine nur geringe Dissoziation aufweisen, ein Verhalten, das den Tatsachen auch entsprechen wird nach den Vorstellungen, die wir uns über den Säurecharakter dieser Verbindungen machen können. Die experimentellen Befunde stehen demnach in keinem Widerspruch mit den Donnanschen Ableitungen, und zweifellos gewährt es Vorteile bei der Behandlung mancher Probleme, diese Ableitungen zu berücksichtigen.

II.

In einer früheren Arbeit[1]) wurde gezeigt, daß bei der Kompensationsdialyse des Serums gegen eine Außenflüssigkeit von bekanntem Chlorgehalt zum Schluß der Dialyse stets ein etwas höherer Gehalt (um 5 bis 7%) an Chlor in der Außenflüssigkeit gefunden wird als in der Innenflüssigkeit. Nun ergibt sich die Tatsache, daß, wenn das Serum durch eine Säure sauer gemacht wird, von einem bestimmten $H^{\cdot}$-Ionengehalt an (etwa 10^{-5}) dieses Verhältnis sich gerade umkehrt: am Ende der Dialyse steht ein geringerer Chlorgehalt außen mit einem größeren innen im Gleichgewicht. Die folgenden Versuche sollen dies illustrieren. Bei diesen wurde das Serum mit wechselnden Mengen Essigsäure versetzt und gegen destilliertes Wasser dialysiert. Außerdem wurde zum Vergleich normales und mit Kohlensäure behandeltes Serum herangezogen. Nach Abschluß der Dialyse wurde die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration der Innenflüssigkeit elektrometrisch festgestellt. Die Chlorbestimmung erfolgte nach äußerst vorsichtiger Veraschung mit Zusatz von Na_2CO_3 nach Volhard[2]).

[1]) Diese Zeitschr. 14, 476, 1908.

[2]) Als Nebenbefund sei erwähnt, daß nach Ansäuerung des Serums die rein gelbe Farbe desselben in eine hell citronengelbe umschlug.

Versuch 1.

(Dialyse 24 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H·-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm Serum + 10 ccm Wasser	—	0,1453	0,1344	—	Mit zunehmender H·-Ionenkonzentration wird das Serum gelber.
2. 50 ccm Serum + 10 ccm 5 n-Essigsäure	$^5/_6$ n	0,1269	0,1500[2])	$0,33 \cdot 10^{-3}$	
3. 50 ccm Serum + 10 ccm 1 n-Essigsäure	$^1/_6$ n	0,1234	—	$0,57 \cdot 10^{-4}$	Globulinfällung.

Als Außenflüssigkeit dienten je 60 ccm dest. Wasser. In diesen wie in allen mitgeteilten Versuchen war der Übertritt von Wasser von außen nach innen im Verlaufe der Dialyse äußerst gering, er betrug höchstens 1 bis 2 ccm, in den meisten Fällen war er unter 1 ccm.

Versuch 2.

(Dialyse 36 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H·-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm normales Serum + 10 ccm dest. Wasser .	—	0,1581	0,1453	$0,13 \cdot 10^{-6}$	
2. 50 ccm CO_2-Serum + 10 ccm dest. Wasser .	—	0,1570	0,1429	$0,72 \cdot 10^{-6}$	CO_2-Durchleitung 20 Min.
3. 50 ccm Serum + 10 ccm $^n/_4$-Essigsäure	$^n/_{24}$	0,1429	0,1595	$0,15 \cdot 10^{-4}$	Trübung.
4. 50 ccm Serum + 10 ccm $^n/_1$-Essigsäure	$^n/_6$	0,1383	0,1609	$0,78 \cdot 10^{-4}$	Niederschlag.

Als Außenflüssigkeit dienten je 60 ccm dest. Wasser.

---

[2]) Diese Zahl wurde nicht direkt bestimmt, sondern aus dem Chlorgehalt des ursprünglichen Serums berechnet. Alle anderen Zahlen dieser und der folgenden Versuche sind direkt ermittelt.

Versuch 3. (Dialyse 21 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H˙-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm Serum + 10 ccm n/1-Essigsäure	n/6	0,1272	0,1553	$0{,}56 \cdot 10^{-4}$	Trübung.
2. 50 ccm Serum + 10 ccm n/2-Essigsäure	n/12	0,1255	0,1602	$0{,}26 \cdot 10^{-4}$	Trübung.
3. 50 ccm CO_2-Serum + 10 ccm dest. Wasser .	—	0,1344	0,1495	$0{,}31 \cdot 10^{-6}$	CO_2-Durchleitung 1/2 stünd.

Als Außenflüssigkeit dienten je 60 ccm dest. Wasser.

Versuch 4. (Dialyse 44 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H˙-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm Serum + 10 ccm dest. Wasser	—	0,1524	0,1340	$0{,}72 \cdot 10^{-7}$	Trübung.
2. 50 ccm CO_2-Serum + 10 ccm Wasser . . .	—	0,1386	0,1482	$0{,}45 \cdot 10^{-6}$	CO_2-Durchleitung 20 Min. Trübung.
3. 50 ccm Serum + 10 ccm n/1-Essigsäure	n/6	0,1223	0,1605	$0{,}67 \cdot 10^{-4}$	Niederschlag.

Als Außenflüssigkeit dienten 60 ccm dest. Wasser.

Versuch 5. (Dialyse 24 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H˙-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm Serum + 10 ccm n/8-Essigsäure	n/48	0,1510	0,1357	$0{,}80 \cdot 10^{-6}$	Geringe Trübung.
2. 50 ccm Serum + 10 ccm n/4-Essigsäure [1])	n/24	0,1500	0,1481	$0{,}67 \cdot 10^{-5}$	Trübung und Niederschlag.
3. 50 ccm Serum + 10 ccm n/4-Essigsäure	n/24	0,1560	0,1475	$0{,}60 \cdot 10^{-5}$	Trübung und Niederschlag.
4. 50 ccm Serum + 10 ccm n/2-Essigsäure	n/12	0,1475	0,1596	$0{,}20 \cdot 10^{-4}$	Trübung.
5. 50 ccm Serum + 10 ccm n/1-Essigsäure	n/6	0,1478	0,1566	$0{,}73 \cdot 10^{-4}$	Spur Niederschlag.

Als Außenflüssigkeit dienten je 60 ccm dest. Wasser.

[1]) In diesem Falle war die Dauer der Dialyse nur 20 Stunden.

Versuch 6.

(Dialyse 35 Stunden.)

Zusammensetzung der Innenflüssigkeit vor der Dialyse	Normalität in bez. auf Essigsäure	Cl in der Außenflüssigkeit nach der Dialyse %	Cl in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse %	H˙-Ionenkonzentration in der Innenflüssigkeit nach der Dialyse	Bemerkungen
1. 50 ccm Serum + 10 ccm dest. Wasser	—	0,1566	0,1512	$0{,}20 \cdot 10^{-7}$	
2. 50 ccm Serum + 10 ccm $^n/_2$-Essigsäure	$^n/_{12}$	0,1382	0,1660	$0{,}21 \cdot 10^{-4}$	Niederschlag.
3. 50 ccm Serum + 10 ccm $^n/_1$-Essigsäure	$^n/_6$	0,1340	0,1662	$0{,}41 \cdot 10^{-4}$	Niederschlag.

Als Außenflüssigkeit dienten je 60 ccm dest. Wasser.

Ordnet man die einzelnen Versuche nach steigendem Gehalt der Flüssigkeit an H˙-Ionen, so erhält man folgende Tabelle:

Nr.	H˙-Ionen-konzentration	Cl in der Innenflüssigkeit %	Cl in der Außenflüssigkeit %	Dauer der Dialyse Std.
1	$0{,}20 \cdot 10^{-7}$	0,1512	0,1556	35
2	$0{,}35 \cdot 10^{-7}$	0,1344	0,1453	24
3	$0{,}72 \cdot 10^{-7}$	0,1340	0,1524	36
4	$0{,}13 \cdot 10^{-6}$	0,1453	0,1581	36
5	$0{,}31 \cdot 10^{-6}$	0,1495	0,1344	21
6	$0{,}45 \cdot 10^{-6}$	0,1482	0,1386	44
7	$0{,}72 \cdot 10^{-6}$	0,1492	0,1570	36
8	$0{,}80 \cdot 10^{-6}$	0,1357	0,1510	24
9	$0{,}60 \cdot 10^{-5}$	0,1475	0,1560	24
10	$0{,}67 \cdot 10^{-5}$	0,1481	0,1500	24
11	$0{,}15 \cdot 10^{-4}$	0,1595	0,1429	36
12	$0{,}20 \cdot 10^{-4}$	0,1596	0,1475	24
13	$0{,}21 \cdot 10^{-4}$	0,1660	0,1382	35
14	$0{,}26 \cdot 10^{-4}$	0,1602	0,1255	21
15	$0{,}41 \cdot 10^{-4}$	0,1662	0,1340	35
16	$0{,}57 \cdot 10^{-4}$	—	0,1234	24
17	$0{,}59 \cdot 10^{-4}$	0,1553	0,1272	21
18	$0{,}67 \cdot 10^{-4}$	0,1603	0,1223	44
19	$0{,}73 \cdot 10^{-4}$	0,1566	0,1478	24
20	$0{,}78 \cdot 10^{-4}$	0,1609	0,1383	36
21	$0{,}82 \cdot 10^{-4}$	—	0,1298	24
22	$0{,}33 \cdot 10^{-3}$	0,1500	0,1269	24

Die Zahlen in dieser Tabelle sind untereinander nicht ohne weiteres vergleichbar, da sie verschiedenen Serumproben entstammen, deren Chlorgehalt wenn auch nicht bedeutend, doch

immerhin etwas abweichend ist. Auch ist bei den kurzdauernden Versuchen (21 Stunden) das endgültige Gleichgewicht möglicherweise nicht vollkommen erreicht.

Es muß noch bemerkt werden, daß bei den Dialysen, die in der Frage des „nicht diffusiblen Natriums“ mit durch HCl angesäuerten Seren gemacht wurden, eine ähnliche Verschiebung der Cl-Ionen zu konstatieren war, indem in der „Innenflüssigkeit“ (Serum) stets eine bedeutend größere Chlormenge gefunden wurde wie in der Außenflüssigkeit.

Eindeutig zeigen alle Versuche, daß bei einer $[H^{\cdot}]$ von etwa $1,5 \cdot 10^{-5}$ an aufwärts nach der Dialyse in der Innenflüssigkeit stets größere Mengen Chlor als in der Außenflüssigket vorhanden sind; unterhalb dieses Aciditätsgrades liegt die Verteilung des Chlors auf die Innen- und Außenflüssigkeit gerade umgekehrt: außerhalb der Dialysiermembran ist mehr Chlor als innerhalb, wie dies zum Teil für das normale Serum bei einer früheren Arbeit bereits gezeigt wurde. Im Bereich der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration von 10^{-6} und 10^{-5} werden die Verhältnisse infolge der massenhaften Ausscheidung des Globulins verwickelter; hier finden wir auch in zwei Versuchen (Nr. 5 und 6 der Tabelle) aus der Reihe fallende Werte, indem in der Außenflüssigkeit weniger Chlor gefunden wurde. Diese $[H^{\cdot}]$ von 10^{-6} bis 10^{-5} stellt aber gerade das isoelektrische Gebiet der Serumeiweißkörper dar. Wie die Untersuchungen von Michaelis und Rona, Michaelis und Davidsohn[1]) zeigen, liegt der isoelektrische Punkt des Serumglobulins bei $3,6 \cdot 10^{-6}$, der des genuinen Serumalbumins bei $2 \cdot 10^{-5}$.

Wenn wir auch von einer ganz scharfen Umgrenzung dieses Gebietes in einem Gemisch von Eiweißkörpern, wie es im Serum vorliegt, nicht sprechen können, so muß zweifellos nach unserer Kenntnis des isoelektrischen Punktes des Serumglobulins und des Serumalbumins die isoelektrische Zone der Gesamteiweißkörper des Serums bei etwa 10^{-6} bis 10^{-5} liegen, und dementsprechend wird sich das Serumeiweiß oberhalb dieser als Kation, unterhalb derselben als Anion verhalten müssen.

Mit dieser theoretischen Überlegung ist auch die Erklärung der oben skizzierten Verschiebung gegeben. Das kathodische

[1]) Diese Zeitschr. 28, 193, 1910; 33, 456, 1911.

Eiweiß verbindet sich mit den Cl-Ionen, die somit indiffusibel werden. Die Menge der diffusiblen Cl-Ionen nimmt ab, und deswegen muß auch die Cl-Menge der Außenflüssigkeit nach der Dialyse geringer ausfallen, als bei den Dialysen mit anodischen Serumeiweißkörpern.

Wir wollen aber auch die Donnanschen Überlegungen, von denen wir schon oben bei der HCO_3'-Frage ausführlich berichtet haben, auf unseren Fall für das Cl-Gleichgewicht anzuwenden versuchen. Hier liegen für die in unserem Falle in Frage kommenden Ionenarten folgende Verhältnisse vor:

Ursprünglicher Zustand					Gleichgewichtszustand						
innen				außen	innen				außen		
$R^{\cdot}$	Cl'	$Na^{\cdot}$	Cl'	—	$R^{\cdot}$	Cl'	$Na^{\cdot}$	Cl'	Cl'	$Na^{\cdot}$	Cl'
c_1	c_1	c_2	c_2	—	c_1	$c_1 - x$	$c_2 - z$	$c_2 - y$	x	z	y
(1)				(2)	(1)				(2)		
									$z = x + y$		

Die Membran ist für das Eiweißkation $R^{\cdot}$ (wie auch für das undissoziierte Salz RCl) undurchlässig, für alle anderen hier in Betracht kommenden Ionen durchlässig. c_1, c_2, x, y, z sind die entsprechenden molaren Konzentrationen.

Entsprechend den obigen thermodynamischen Überlegungen ergibt sich

$$[Na^{\cdot}]_2 \, [Cl']_2 = [Na^{\cdot}]_1 \, [Cl']_1 ,$$

woraus bei Einsetzung der entsprechenden Werte folgt:

$$z(x+y) = (c_2 - z)[c_1 + c_2 - (x+y)]; \quad z = x + y = X;$$

$$\frac{c_2 + c_1 - X}{X} = \frac{X}{c_2 - X}; \qquad \frac{c_1 + c_2 - X}{X} = \frac{[Cl]_{innen}}{[Cl]_{außen}};$$

$$X = \frac{c_2(c_2 + c_1)}{c_1 + c_2}; \qquad \frac{X}{c_2} = \frac{c_2 + c_1}{c_1 + 2c_2}; \qquad \frac{c_2}{X} = \frac{c_1 + 2c_2}{c_1 + c_2};$$

$$\frac{c_2}{X} - 1 = \frac{c_2 - X}{X} = \frac{c_2}{c_1 + c_2};$$

$$\frac{X}{c_2 - X} = \frac{c_1 + c_2 - X}{X} = \frac{[Cl]_{innen}}{[Cl]_{außen}} = \frac{c_1 + c_2}{c_2} > 1,$$

für den Fall, daß c_2 nicht unendlich groß im Vergleich zu c_1 ist.

Es ergibt sich demnach an der Hand der Donnanschen Anschauungen, daß, falls das Eiweiß (R) als Kation figuriert, die Konzentration des Chlors zum Schluß der Dialyse innen größer sein wird als außen (da $c_1 + c_2 > c_2$), wie in unserem Fall.

Es wird von dem Verhältnis c_1 zu c_2 abhängen, wie groß die Verschiebung der Verteilung von Cl' im Gleichgewicht sein wird. Mit der Annahme der Donnanschen Überlegungen brauchen wir also nur einen Bruchteil der Chlormenge, die bei den Dialysen oberhalb der isoelektrischen Zone als plus im Vergleich zu außen gefunden wurde, an das Eiweiß gebunden zu denken, denn schon eine relativ geringe Menge von dissoziierter Cl-Eiweißverbindung könnte die Cl-Verteilung im gefundenen Sinne verschieben. Eine einfache Überlegung zeigt, daß in unserem Falle c_1 etwas mehr als den zehnten Teil von c_2 betragen dürfte.

Im wesentlichen sind die beiden Betrachtungsweisen nicht verschieden, nur werden bei den Donnanschen Ableitungen die Ionenverhältnisse im System umfassender berücksichtigt.

Jedenfalls war es von Interesse, die Donnansche Annahme auf den vorliegenden Fall anzuwenden. Uns scheint die ungleiche Ionenverteilung, im Sinne von Donnan, für manche Fragen der Ionenverteilung im Organismus von Bedeutung[1]), und sie muß auch in jedem hierher gehörenden Fall in Betracht gezogen werden. Im allgemeinen werden jedoch im Serum die von Donnan geforderten Verschiebungen nicht merklich hervortreten infolge des großen Überschusses der diffusiblen Elektrolyte gegenüber den nichtdiffusiblen.

Zusammenfassung.

Auf zweierlei Weise, durch Ultrafiltration von CO_2-Seren, dann durch Dialyse von mit Salzsäure versetzten Seren konnten wir die Angaben früherer Autoren (Zuntz, Hamburger) über die Existenz des „nichtdiffusiblen Natriums“ bestätigen. Die Menge desselben beträgt ca. 10 bis 15 % der Gesamtmenge des Natriums im Serum. An der Hand der experimentellen Befunde konnte auch auf die Rolle der Carbaminoproteine bei der Natriumverschiebung unter der Einwirkung der Kohlensäure hingewiesen werden.

---

[1]) Vgl. hierzu die Ausführungen von Donnan, l. c. — Vgl. auch Roaf, Quarterly Journ. of experim. Physiol. 5, 131, 1912 (zitiert nach Höber, l. c.). — Donnan und Harris, Transact. of the Chemical. Soc. 99, 1554, 1911. — Bayliss, Proc. Roy. Soc. London 84, 229, 1912. — Höber, Arch f. d. ges. Physiol. 150, 15, 1913.

Ferner wurde gefunden, daß bei der Dialyse des angesäuerten Serums von einer bestimmten $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration an (etwa 10^{-5}) aufwärts die Chlorverteilung innerhalb und außerhalb der Dialysiermembran sich so verhält, daß eine höhere Chlorkonzentration innen mit einer niedrigeren außen im Gleichgewicht steht, während unterhalb dieser $H^{\cdot}$-Konzentration die Verteilung gerade umgekehrt ist. Bei der Erklärung dieser Tatsache wurde versucht, die von Donnan entwickelten Überlegungen in Betracht zu ziehen. Es konnte gezeigt werden, daß diese in guter Übereinstimmung mit den experimentellen Befunden stehen.

Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische und ihren Aufenthaltsort.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Osw. Polimanti.

(Aus der physiologischen Abteilung der Zoologischen Station zu Neapel.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1913.)

Von verschiedenen Autoren ausgeführte Untersuchungen wie auch eigene Beobachtungen, die ich im Aquarium zu Neapel anzustellen hatte, führten mich dazu, a priori anzunehmen, daß die größere oder geringere Menge des in den Fischen enthaltenen Fettes von hoher biologischer Bedeutung ist, um ihr Schwimmen an der Oberfläche zu erleichtern. Ich gelangte zu der Ansicht, daß den an der Oberfläche sich aufhaltenden Seefischen dieses Verweilen eben in den oberflächlichen Gegenden des Meeres sehr erleichtert wird nicht nur durch die bei ihnen stets beträchtlich entwickelte Schwimmblase, sondern auch durch das geringere spezifische Gewicht, das sie oft zeigen, weil sie eben eine beträchtliche Menge Fett enthalten. Wenn wir nun unsere Aufmerksamkeit auf die Eier der Fische richten, können wir sagen, daß alle aus dem Eierstock entleerten reifen Teleostiereier, die sich auf hoher See finden, durchsichtig sind, an der Oberfläche schwimmen und sich vorzugsweise in den Tierströmungen vorfinden, einen mehr oder minder großen ölhaltigen Tropfen haben, der dieses Schwimmen an der Oberfläche gestattet. Solange das spezifische Gewicht des befruchteten Eies und des von ihm absorbierten Wassers geringer ist als das des Seewassers, schwimmt das Ei an der Oberfläche.

Wenn sich der Embryo allmählich entwickelt, treten drei wichtige, gleichzeitige Erscheinungen von der größten Bedeutung

ein, die bewirken, daß das spezifische Gewicht des Eies sich ändert. In dem Maße, wie der Embryo sich entwickelt, dringt fortwährend Wasser ein in den vom Eidotter, der allmählich abnimmt, freigelassenen Raum, und deshalb wächst das spezifische Gewicht des Eies. Eine weitere Ursache, die das Ei allmählich immer schwerer macht, besteht darin, daß der Embryo während seiner Entwicklung aus der perivitellinischen Flüssigkeit Salze, Wasser und bestimmte eiweißhaltige Stoffe resorbiert, indem er schwerer wird in dem Maße, wie er wächst. Und endlich verschwindet nach und nach immer mehr der charakteristische ölig-fettige Tropfen, der sich im Ei befand. Dies sind meiner Ansicht nach die drei Hauptfaktoren, die bewirken, daß ein Teleostierei, das im Beginn der Entwicklung an der Oberfläche schwamm, sich dann allmählich immer mehr vom Wasserspiegel entfernt und so nach und nach immer tiefer sinkt.

Hier ist nicht der Ort, die hohe biologische Bedeutung dieser senkrechten Wanderungen, namentlich für die Entwicklung des Embryos, hervorzuheben; ich wollte nur darauf hinweisen, daß der ölhaltige Tropfen des Eies einer der Hauptfaktoren, wenn nicht der Hauptfaktor, des Schwimmens des Eies an der Oberfläche ist, eben weil er derjenige ist, welcher vor allem die Verminderung des spezifischen Gewichtes verursacht. Alle den Meeresboden bewohnenden Teleostier (Pleuronektiden, Trachiniden) erhalten sich im Larvenzustand und in den letzten jugendlichen pelagischen Stadien nicht nur an der Oberfläche und sind ausgezeichnete Schwimmer, weil sie mit einer sehr entwickelten Schwimmblase ausgestattet sind, sondern auch weil sie reichliche Fettmassen haben, die zerstreut und in bestimmten Gegenden ihres Körpers lokalisiert sind. Wenn sie hinlänglich herangewachsen sind und aus den Höhen des Meeres auf den Grund gehen, dann verschwindet allmählich die Schwimmblase, bis sie unbedeutend oder atrophisch wird; gleichzeitig verschwinden aber auch immer mehr jene Fettmassen, bis sie ganz unbedeutend oder doch sehr begrenzt werden.

Aus dieser Tatsache kann man erkennen, daß eine enge Beziehung besteht zwischen dem im Körper des Teleostiers enthaltenen Fett und seiner Schwimmblase, zwischen diesen

beiden Faktoren und der Verminderung des spezifischen Gewichtes des Fisches und mithin zu dem leichten Schwimmen des Tieres an der Oberfläche.

Wenn wir nun von den Fischen zu den Säugetieren des Meeres (Cetaceen, Sirenien) übergehen, so sehen wir, daß bei diesen Tieren, die bisweilen wahrhaft riesige Proportionen annehmen, das Schwimmen an der Oberfläche besonders begünstigt wird durch enorme Mengen von Fett, die sich im subcutanen Gewebe vorfinden. Diese Fettmengen sind so groß, daß auf diese Säuger fast ausschließlich zu dem Zwecke Jagd gemacht wird, um diese Fettstoffe zu erbeuten und zu verwenden; in diesem Falle sind sie das einzige Mittel, um das spezifische Gewicht dieser Meeresungetüme zu vermindern und so das Schwimmen auf der Oberfläche des Meeres zu gestatten.

Von diesen Erwägungen und den hier in Kürze erwähnten Tatsachen ging ich aus, um zu untersuchen, ob der Fettgehalt bei den nektonischen und benthonischen Fischen große Unterschiede darböte, so daß das bei den ersteren leichtere Treiben an der Oberfläche und Schwimmen nicht nur durch die größere Entwicklung der Schwimmblase begünstigt würde, sondern auch durch die größeren Fettmengen, die sie möglicherweise enthielten.

Wie wir nun im folgenden sehen werden, ist meine Hypothese durch diese erste Reihe von Experimenten vollkommen bestätigt worden. Ich wählte verschiedene Fischarten, und zwar nach ihren verschiedenen Aufenthaltsorten.

Nachdem ich sie gewogen und fein zerrieben hatte, brachte ich sie in den Brutofen bei 105°, bis ich ein konstantes Gewicht erhielt, um ihren Wassergehalt zu bestimmen.

In der Folge nahm ich, nachdem ich die Trockensubstanz nochmals sehr fein zerrieben hatte, die Extrahierung des Fettes nach der Soxhletschen Methode mit Äther während einer Dauer von 12 Stunden vor. Ich resümiere in Gestalt einer Tabelle die erhaltenen Resultate, indem ich die untersuchten Fische nach ihrem Fettgehalt in absteigender Ordnung anführe.

Name und Art des untersuchten Fisches	Zahl der untersuchten Fische	Gewicht d. frischen Fische g	Wasser % g	Fett % der frischen Substanz g	Fett % der Trocken-substanz g
1. Clupea pilchardus Art. . . .	10	225,00	69,201	6,298	20,447
2. Mugil chelo Cuv.	1	1300,00	70,983	3,659	12,609
3. Engraulis encrasicholus L. .	21	358,00	75,265	2,260	9,133
4. Scorpaena scrofa L.	3	226,50	75,121	1,795	7,211
5. Congromuraena balearica Kp.	2 ♂♀	75,00	77,415	1,529	6,768
6. Blennius gattorugine Will. .	5	85,75	74,565	1,634	6,422
7. Torpedo ocellata Raf. . . .	2 ♂♀	920,00	78,620	1,405	6,100
8. Solea ocellata L.	4	337,50	73,777	1,429	5,448
9. Scyllium canicula L.	2♂, 2♀	835,00	73,295	1,420	5,315
10. Trachinus draco L.	8	282,40	71,519	1,348	4,730
11. Conger vulgaris Cuv. . . .	2	68,79	77,213	0,860	3,774
12. Uranoscopus scaber L. . . .	2	120,00	78,125	0,569	2,600
13. Rhomboidyctis podas L. . .	7	310,50	78,116	0,323	1,474
14. Gobius paganellus L. . . .	8	130,48	77,145	0,255	1,115

Eine auch nur oberflächliche Prüfung der Resultate überzeugt uns sofort davon, daß die Voraussetzung durch das Experiment vollständig bestätigt worden ist.

Ich habe den Fettgehalt von drei Fischen analysiert, von denen zwei deutlich pelagischen Arten (Clupeiden: Clupea, Engraulis) angehören, der dritte einer Art von Küstenschwimmern (Mugiliden: Mugil), also Oberflächenfischen par excellence; nehmen wir nun das Mittel auch von ihrem Fettgehalt, so sehen wir, daß dieser erheblich größer ist als der bei allen anderen Fischen beobachtete, die mehr oder weniger seßhaft sind.

Tatsächlich ergeben Clupea pilchardus, Mugil chelo, Engraulis encrasicholus als Mittel:

Wasser %	Fett % der frischen Substanz	Fett % der Trockensubstanz
g	g	g
71,816	4,072	14,063

Nehmen wir dagegen das Mittel aus den Mitteln dieser selben Werte für alle anderen untersuchten Fische, die zur Kategorie der seßhaften Fische gehören, so erhalten wir:

Wasser %	Fett % der frischen Substanz	Fett % der Trockensubstanz
g	g	g
75,901	1,142	4,632.

Aus diesen Mitteln ergibt sich also klar, daß die zur Kategorie der Wanderfische gehörenden Fische weniger Wasser haben als die zur Kategorie der Benthonischen- und Nomadenfische gehörenden, und daß sie gleichzeitig ungefähr dreimal mehr Fett als die letzteren enthalten.

Für unsere Schlußfolgerungen sehr interessante Resultate ergeben sich auch, wenn wir die untersuchten Fische nach Ordnung, Art und Gattung zusammenstellen und sie nach der Fettmenge, die sie enthalten, in absteigender Reihenfolge anführen:

Ordnung oder Arten und Gattungen	Gehalt an Wasser % g	Fett % der frischen Substanz g	Fett % der Trockensubstanz g
Blenniidae			
Blennius gattorugine	74,565	1,634	6,422
Selachier			
Scyllium canicula Torpedo ocellata	75,975	1,412	5,707
Muraeniden			
Conger vulgaris Congromuraena balearica	77,314	1,194	5,271
Cataphracti			
Scorpaena porcus Trachinus draco Uranoscopus scaber	74,921	1,237	4,847
Pleuronectidae			
Solea ocellata Rhomboidyctis podas	75,946	0,876	3,461
Gobiidae			
Gobius paganellus	77,145	0,255	1,115

Bei Prüfung dieser Tabelle ergibt sich sehr deutlich eine Tatsache, die unsere Behauptung vollkommen bestätigt, daß nämlich eine Art, je seßhafter sie ist, eine um so geringere Fettmenge enthält. Blennius ist tatsächlich ein Fisch, der sich in der Nähe des Meergestades aufhält, bisweilen auch eine längere oder kürzere Zeit auf dem Trocknen am Ufer bleiben kann, und er repräsentiert eben die Art, die im Vergleich mit den auf dieser Tabelle verzeichneten eine größere Fettmenge enthält.

Die Selachier, die Muraeniden und die Cataphracten sind auch Fische, die unter den Steinen, im Sand oder in den Spalten der Klippen leben, jedoch von Zeit zu Zeit ihre Schlupfwinkel verlassen, um nach Beute zu suchen. Da sie nun

fast den gleichen Aufenthaltsort haben, ist auch die Fettmenge, die sie enthalten, fast die gleiche; sie schwankt innerhalb sehr enger Grenzen.

Dagegen ist bei den mehr seßhaften Arten, wie den Pleuronektiden und Gobiiden, die Fettmenge unendlich geringer im Vergleich mit den anderen Arten, die auf dieser Tabelle angeführt sind. Allgemein bekannt ist ja, daß nicht nur die (im Sande lebenden) Pleuronektiden, sondern auch die Gobiiden den ganzen Zeitraum des Tages im Zustand beinahe vollständiger Unbeweglichkeit verbringen und nur dann umherschwimmen, wenn sie ihre Beute aufsuchen oder durch andere Faktoren (wie z. B. eine sehr intensive Lichtquelle) dazu veranlaßt werden. Die Seßhaftigkeit des Gobius geht, wie wohl bekannt ist, so weit, daß er fast konstant zusammengerollt bleibt in einer Felsenkluft, kurz in irgendeiner natürlichen oder künstlichen Höhlung, die er im Meere findet, um z. B. die dort abgelagerten Eier zu bewachen. Nun ist aber der Gobius die Spezies, die eine geringere Fettmenge als alle anderen von mir beobachteten Arten enthält, weil er eben sicher eine der seßhaftesten ist.

Dieser erste vorläufige Beitrag gehört zur Kategorie der allgemein biologischen Fragen, die auch für die Physiologie von Interesse sind. Das Studium dieser Frage, deren Verfolgung ich mir vorgenommen habe, wirft ein helles Licht auf eine hochinteressante physiologische Frage, nämlich die der Schwankungen des spezifischen Gewichtes bei den Fischen, je nach ihrem Aufenthaltsort, infolge der Fettmenge, die sie enthalten.

Unzweifelhaft ergibt sich aus unseren Resultaten, daß das Schwimmen an der Oberfläche bei den nektonischen Fischen nicht nur durch die Dimensionen, die bei ihnen die Schwimmblase aufweist, erleichtert, sondern auch gleichzeitig durch die größere Fettmenge, die sie enthalten, begünstigt wird.

Es besteht also unbedingt eine sehr enge Beziehung zwischen Fettmenge und Schwimmblase bei den Fischen, und man möge mir gestatten, die Aufmerksamkeit gerade auf diese Tatsache zu lenken, weil diese Frage meiner Ansicht nach nicht nur für die allgemeine Biologie, sondern auch für die Physiologie von hervorragender Bedeutung ist.

Weitere Untersuchungen, die ich auf andere Fischarten, nicht nur Seefische, sondern auch Süßwasserfische, nach ihren verschiedenen Aufenthaltsorten ausdehnen will, werden, wie ich hoffe, weiterhin bestätigen, was sich aus dieser ersten Reihe von Versuchen ergeben hat.

Auch will ich meine Untersuchungen auf Fische derselben Art ausdehnen und sie im Jugendstadium und bis zum ganz erwachsenen Zustand studieren (z. B. die Pleuronektiden, die aus nektonischen Fischen im Larvenzustand dann deutlich benthonische Fische werden).

Die uns hier beschäftigende Frage kann auch noch weiter durch Feststellung von Tatsachen ihrer Lösung entgegengeführt werden, wenn die Untersuchungen auf ein Tier ausgedehnt werden, das sich verschiedenen Tiefen angepaßt hat. Zu diesen Untersuchungen kann z. B. sehr gut der Conger vulgaris Cuv. dienen, der nicht nur weit verbreitet ist, sondern auch in einer Tiefe von wenigen Metern bis zu ungefähr 1000 m gefangen wird. Der Conger zeigt ein verschiedenes Aussehen je nach seiner vertikalen Verteilung: die Tiere nämlich, welche zwischen den Klippen der Seeküste leben, haben eine samtschwarze Farbe, während die in schlammigen oder mit Schutt gefüllten Tiefen lebenden eine blaßgraue Färbung zeigen.

Eine weitere Frage, die nach Aufklärung der biologischen Bedeutung des Fettes gelöst werden muß, besteht darin, genau die Entstehung der größeren Fettmenge, die sich bei den Oberflächenfischen vorfindet, kennen zu lernen. Untersuchungen über den Gesamtstoffwechsel werden uns gewiß auch hinsichtlich dieser Erscheinung Aufklärung verschaffen.

Über die Phosphatide der Erythrocytenstromata bei Hammel und Menschen.

Von

M. Bürger und **H. Beumer.**

(Aus der inneren Abteilung des städtischen Krankenhauses Charlottenburg-Westend und der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1913.)

Die weitverbreiteten, in fast allen Zellen der Körpers vorkommenden Phosphatide scheinen immer ein mehr oder weniger kompliziertes Gemisch sehr verschiedenartiger Substanzen darzustellen. Über die wichtige Rolle dieser Lipoide im allgemeinen haben uns viele Arbeiten orientiert, dagegen fehlt uns noch jede Vorstellung, welche Bedeutung den einzelnen Komponenten des Phosphatidgemisches zukommt. Während die Phosphatide des Gehirns und des Herzmuskels eine eingehende Bearbeitung gefunden haben, existieren über die Phosphatide des Blutes nur wenige Angaben in der Literatur. Sie werden hier noch unter dem bequemen aber unrichtigen Sammelbegriff „Lecithin" zusammengefaßt, das aus der gefundenen Menge ätherlöslicher P_2O_5 berechnet zu werden pflegt[1]). Das Blut erschien uns für die Phosphatidchemie aus dem Grunde ein sehr geeignetes Ausgangsmaterial, weil wir — wenn einmal die einzelnen Komponenten des Phosphatidgemisches der Zelle (des Erythrocyten) unter physiologischen Bedingungen bekannt sind — aus Abänderungen in diesen Mischungsverhältnissen unter pathologischen Bedingungen Aufschlüsse über die Bedeutung

[1]) Bang und Forssman, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11** berichten zwar darüber, daß sie bei Darstellung des Lysinogens der Erythrocyten auf verschiedene Phosphatide gestoßen sind, bringen jedoch keine näheren analytischen Belege.

der einzelnen Phosphatide zu erlangen hofften. Wir haben bereits in einer früheren Mitteilung[1]) eine Trennung der verschiedenen Blutkörperchenphosphatide beim Menschen versucht. Die Schwierigkeiten liegen dabei schon in der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Materials. Wir geben im folgenden einige Untersuchungen wieder, die teils an einer größeren Quantität Hammelblut und an einem Sammelstroma einerseits vom Blut gesunder, andererseits carcinomkranker Menschen gewonnen wurde. Die Methodik unterscheidet sich nicht von der in unserer II. Mitteilung angewandten und sei hier in Kürze wiederholt:

Die Blutkörperchen werden auf der Zentrifuge vom Serum befreit, dreimal mit Kochsalzlösung gewaschen, mit dem 10fachen Volumen Aqua dest. hämolysiert, durch Wattefiltration werden Leukocyten und Blutplättchen vom Stroma getrennt. Nach Einleiten von CO_2 in die Hämoglobinlösung sedimentieren die zusammengeballten Stromata leicht und werden nach längerem Waschen mit Wasser nahezu hämoglobinfrei getrocknet.

Aus Hammelblut gewannen wir ein Ausgangsmaterial von 54 g Trockenstromata, entsprechend etwa 6 l Blut. Diese lieferten nach 5wöchentlicher Extraktion mit 8000 ccm Äther bei Zimmertemperatur ein primäres Ätherextrakt von 3,7 g und ein sekundäres Alkoholextrakt von 5,5 g nach Extraktion mit der gleichen Menge Alkohol absol. bei 37°. Das Gesamtextrakt stellt mithin 17% des Trockenstromas dar, was zwar nur einen Annäherungswert bedeutet, der etwas zu niedrig bemessen sein dürfte.

Das Ätherextrakt.

Die ätherische Lösung war beinahe farblos und hinterließ beim Verdampfen einen fast weißen, größtenteils krystallinischen Rückstand, der auch in Alkohol völlig löslich war. Neben einem leicht stechenden Geruch nach Fettsäuren hatte er einen deutlichen spezifischen Geruch nach Hammelfett, der beim sekundären Alkoholextrakt nicht bemerkt wurde. Er haftet wohl den geringen Mengen Neutralfett an, die die Erythrocyten enthalten. 75% dieses Ätherextraktes war Cholesterin, und zwar freies Cholesterin. Cholesterinester fehlten, wie aus einer ver-

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 71, 311.

gleichenden Analyse mittels der Digitoninmethode ohne vorangehende und nach erfolgter energischer Verseifung hervorgeht:

0,0640 Ätherextrakt nach Verseifung 0,1927 Digitonin-Cholesterid
= 0,04875 Cholesterin,

0,0508 Ätherextrakt direkt gefällt 0,1512 Digitonin-Cholesterid
= 0,0378 Cholesterin,

das ergibt, auf die angewandten Mengen umgerechnet, 0,00014 Cholesterin aus Estern, was weit innerhalb der Fehlergrenze liegt.

Die Acetonfällung des in wenig Äther gelösten Extraktes lieferte nur sehr geringe Mengen eines acetonfällbaren Phosphatids. Auch im Acetonfiltrat war ein acetonlösliches Phosphatid in Spuren nachweisbar.

Das Alkoholextrakt.

Beim Behandeln des dunkelbraunen Extrakts mit Äther blieb ein beträchtlicher Teil ungelöst, der sich als schneeweiße Flocken im Eisschrank ziemlich rasch absetzte. Das Sediment wurde häufig mit großen Äthermengen gewaschen und schließlich bei 37° getrocknet. Es hinterblieb eine glasig opake Substanz, die sich zu einem weißen Pulver von stearinartiger Konsistenz zerreiben ließ. Die Substanz war schwer löslich in kaltem, leicht in heißem Äthylalkohol und in Methylalkohol. Sie quoll in Wasser zu einer weißen Masse auf, sinterte bei 80° etwas zusammen. Schmelzpunkt ungenau unter leichter Bräunung bei 180 bis 185°, schwache Pettenkofersche Reaktion. Molisch' Reaktion negativ. Reduziert nach Kochen mit 2 % HCl Fehlingsche Lösung nicht. Selbst nach 20stündiger Verseifung enthielten die Fettsäuren noch Spuren P.

0,2261 g Substanz lieferte 0,0742 g Fettsäuren = 32,8 %
0,0567 g " — 4,0 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,9 % P
0,0916 g " — 6,6 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,98 % P
0,0746 g " — 2,0 $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 = 3,75 % N
0,1193 g " — 4,2 ccm N bei 717 mm Hg, 21,5°
= 3,85 % N
0,1280 g " — 0,2937 g CO_2 = 63,64 % C
— 0,1337 g H_2O = 11,70 % H.

Es ist wohl kein Zweifel, daß dieses Diaminomonophosphatid der Gruppe der Myeline zugehört und vielleicht mit dem Sphingomyelin identisch ist. Nach obigen Analysen ergäbe sich dafür:

C	H	N	P
63,64	11,70	3,8	3,94

Tabelle über die Zusammensetzung der Diaminomonophosphatide.

Autor	Herkunft	Schmelzpunkt	C	H	N	P	Bezeichnung
Thudichum[1]	Gehirn	—	65,37	11,29	2,96	3,24	Sphingoymelin
	do.	—	67,01	11,35	3,00	3,23	Apomyelin
	do.	—	62,4—62,9	—	—	—	Amidomyelin
Rosenheim u. Tebb[2]	do.	—	62,9	11,54	3,33	3,46	Sphingomyelin
Stern u. Tierfelder[3]	Eigelb	169—170°	68,13	12,14	2,77	3,22	do.
Erlandsen[4]	Herzmuskel	—	59,48	9,42	3,47	3,84	aus der $CdCl_2$-Verbindung berechnet.
Fränkel und Offer[5]	Pferdepankreas	120°	69,26	11,79	2,17	2,48	do.
	Hammelblutkörper	Zersetzungspunkt bei 180°	63,64	11,70	3,8	3,94	do.

Die Angaben über die Zusammensetzung der Myeline weichen also untereinander erheblich ab, und ob die in der Tabelle angeführten Körper alle identisch sind, muß erst das Studium ihrer Spaltprodukte lehren. Bei unseren Hammelblutkörperchen macht das Sphingomyelin ca. 56% des Alkoholextraktes aus.

Der ätherlösliche Rest des Alkoholextraktes ist bei Eisschranktemperatur größtenteils durch Aceton fällbar. Ein geringer Teil blieb im Aceton gelöst und enthielt neben einem bräunlichen Phosphatid, von auffallend stechendem Geruch, noch einige Cholesterinkrystalle.

Die Acetonfällung war beinahe vollständig in Äther löslich. Der unlösliche Teil erwies sich noch als Sphingomyelin.

[1]) Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Thiere. Tübingen 1901.

[2]) Rosenheim und Tebb, Journ. of Physiol. 37, 338, 1908.

[3]) Stern und Tierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 370, 1907.

[4]) Erlandsen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 118, 1907.

[5]) Fränkel und Offer, Biochem. Zeitschr. 26, 53, 1910.

Durch Behandeln mit heißem Alkohol ließ sich aus der Acetonfällung eine unlösliche gelbbraune Substanz abscheiden, die getrocknet einen durchsichtig braunen, glänzenden Körper darstellt. Sie ist unlöslich in kochendem Alkohol, leicht löslich in Äther und Chloroform.

$$\left.\begin{array}{l} 0{,}1160 \text{ g Subst.} - 9{,}5\ ^{n}/_{2}\text{-NaOH} = 4{,}056\ {}^{0}/_{0}\ \text{P} \\ 0{,}1482 \text{ g} \quad " \quad - 1{,}9\ ^{n}/_{2}\text{-NaOH} = 1{,}78\ {}^{0}/_{0}\ \text{N} \end{array}\right\} \text{N} : \text{P} = 1 : 1.$$

Eigenschaften und Zusammensetzung bestimmen diese Substanz als Kephalin.

Ein Vergleich mit den aus den anderen Organen bisher isoliertem Kephalin lehrt, daß unser Körper in bezug auf N- und P-Gehalt am besten mit dem von Frank aus der Leber dargestellten Kephalin übereinstimmt (s. Tab.).

Aus der Tabelle über Kephalinanalysen von A. Frank, diese Zeitschr. **50**, 273. 1913.

Autor	Herkunft	N	P
Thudichum[1]	Gehirn	1,68	4,27
Koch[2]	do.	1,75	3,83—3,85
Cousin[3]	do.	1,82—1,86	3,73—3,89
Neubauer[4]	do.	1,65—1,69	3,44—3,45
Parnas[5]	do.	1,65—1,69	3,87—3,90
Falk[6]	Periphere Nerven	1,94	4,42
Stein u. Tierfelder[7] . . .	Eigelb	1,57	3,60—3,67
Frank[8]	Leber	1,72	3,91

Es bleibt von dem Alkoholextrakt noch der alkohol- und ätherlösliche Teil der Acetonfällung übrig, der durch kochenden Alkohol vom Kephalin geschieden war. Dieser ergab bei der Analyse kein reines Verhältnis von N : P. Es ist darauf zurückzuführen, daß er noch Kephalin enthielt, das etwas in Alkohol löslich ist.

[1] Thudichum, Die chemische Konstitution des Gehirns des Menschen und der Thiere. Tübingen 1901.

[2] W. Koch, Zeitschr. f. physik. Chem. **36**, 134, 1902.

[3] Cousin, Journ. de pharm. et de chim. **29**, 101, 1906.

[4] E. Neubauer, diese Zeitschr. **21**, 321, 1908.

[5] J. Parnas, diese Zeitschr. **22**, 411, 1909.

[6] F. Falk, diese Zeitschr. **13**, 153, 1908.

[7] Stern u. Thierfelder, Zeitschr. f. physik. Chem. **53**, 370, 1907.

[8] A. Frank, diese Zeitschr. **50**, 273, 1913.

0,1092 g Subst. — 7,8 $^n/_2$-NaOH = 3,95 % P
0,1330 g „ — 2,3 $^n/_{10}$-H_2SO_4 = 2,49 % N } N : P = 1,27 : 1.

Nach Umlösen in Alkohol, wobei noch Kephalin zurückblieb:

0,0549 g Subst. — 3,9 $^n/_2$-NaOH = 3,94 % P
0,1457 g „ — 2,7 $^n/_{10}$-H_2SO_4 = 2,59 % N } N : P = 1,45 : 1.

Eine völlige Isolierung gelang uns nicht, weil unser Material zu Ende war. Aus der Verschiebung des Verhältnisses von N : P bei fortschreitender Reinigung ist wohl der Schluß erlaubt, daß hier neben dem Monaminomonophosphatid Kephalin ein äther- und alkohollösliches Diaminomonophosphatid vorhanden ist.

Die Phosphatide des Alkoholextraktes bestehen also — allerdings nur annäherungsweise zusammengestellt — aus:

56 % Sphingomyelin,

36 %, von denen mindestens 12 % wahrscheinlich erheblich mehr Kephalin und ein äther- und alkohollösliches Diaminomonophosphatid ausmachen,

8 % aceton-, äther- und alkohollöslichen Phosphatiden.

Lecithin enthält das sekundäre Alkoholextrakt überhaupt nicht. Selbst wenn das ganze Phosphatid des Ätherextraktes Lecithin ist, machte dies also nur einen sehr geringen Teil der Blutkörperchenphosphatide aus.

Die Stromata der Hammelerythrocyten enthalten demnach rund 5 % Cholesterin, 12 % Phosphatide, von denen etwa 50 % Sphingomyelin sind, oder auf die Lipoide bezogen, annähernd:

$^1/_3$ Cholesterin,
$^1/_3$ Sphingomyelin,
$^1/_3$ Restphosphatide (Kephalin usw.).

Aus dem Stroma ließen sich durch mehrtägiges Kochen mit Alkohol und Chloroform noch geringe Extraktmengen ausziehen. Doch ließen sich auch in diesen wie bei unseren früheren Untersuchungen keine Cerebroside nachweisen.

Menschenblut.

Es liegt nahe, nach den angeführten Fraktionsmethoden solche Blutkörperchen zu untersuchen, die bei Prüfung mit anderen

Methoden ein von der Norm abweichendes Verhalten zeigen. Dabei muß das Ausgangsmaterial ein möglichst gleichmäßiges sein. Aus diesen Gründen wandten wir uns der Untersuchung von Blutkörperchen von carcinomkranken Menschen zu. Von Kraus, Pötzl, Ranzi und Ehrlich[1])[2]) ist gezeigt worden, daß in 78 % der Fälle bei menschlichen Tumorträgern eine Resistenzänderung der roten Blutkörperchen gegen Kobragift vorhanden ist. Ferner zeigte Braga, daß Tumorextrakte eine stärkere hämolytische Wirkung auf carcinomatöse als auf normale Blutzellen des Menschen ausüben. Da man ferner die hämolytische Wirkung von Carcinomextrakten auf die Ölsäure bezog (Grafe und Römer[3]) und chronische Ölsäurevergiftung beim Hunde Resistenzänderung der Erythrocyten herbeiführt (Schminke und Flury[4]), so schien es nicht unwahrscheinlich, daß die Resistenzänderung der Carcinomerythrocyten durch Änderung in der Zusammensetzung der Lipoidhüllen bedingt ist, zumal auch Verschiedenheiten in der osmotischen Resistenz von G. Lang[5]) nachgewiesen wurden, und wir aus vergleichenden Untersuchungen auf osmotische Resistenz und Cholesteringehalt ähnliche Beziehungen kennen.

Für die Untersuchung des Carcinomblutes wurde das Material auf folgende Weise gewonnen: Möglichst bald nach dem Exitus wurde die Vena jug. an der rechten Halsseite eröffnet, das Ausfließen des Blutes durch Elevieren des Körpers beschleunigt. Das gewonnene Blut wurde durch Rühren mit einem Glasstabe defibriniert. Das Verhältnis von Blutkörperchen zu Serum zeigt folgende Tabelle:

[1]) R. Kraus, Pötzl, O. Ranzi und H. Ehrlich, Über das Verhalten menschlicher und tierischer Blutkörperchen gegenüber Kobragift unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Wiener klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 29.

[2]) R. Kraus, E. Ranzi und H. Ehrlich, Biologische Studien über Tumoren der Menschen und Tiere. Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. in Wien. Mathem.-naturw. Kl. **119**, Abt. III.

[3]) E. Grafe und W. Böhmer, Über das Vorkommen hämolytisch wirkender Substanzen im Mageninhalt und ihre Bedeutung für die Diagnose des Magencarcinoms. Arch. f. klin. Med. **93**, 161, 1908

[4]) Schminke u. F. Flury, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Pharm. **64**.

[5]) G. Lang, Über die Resistenz der roten Blutkörperchen gegen hypoisotonische NaCl-Lösungen beim Magenkrebs. Zeitschr. f. klin. Med. **47**, 153, 1902.

Nr.	Alter	Anatomische Diagnose	Menge des gewonnenen Blutes ccm	Menge der auszentrifugierten Blutkörper ccm
1	35	Carc. pylori. Allgemeine Carcinose	1360	870
2	53	Carc. scirrh. ventriculi. Carcinose des Peritoncunus. Ascites	750	150
3	51	Carc. port. uteri. Drüsenmetastasen	425	240
4	61	Carc. uteri. Marasmus	600	350
5	63	Carc. rect. ulceratum. Carcinosis hepatis	950	360
6	66	Carc. uteri. Marasmus	570	110
7	63	Carc. pylori. Drüsenmetastasen	750	85
8	34	Carc. ventriculi. Peritoneal-Carcinose	370	175
9	75	Carc. uteri	950	300
10	45	Carc. ventriculi	300	150
			7045	2730
		Durchschnitts-Volumquotient	$\frac{1\ \text{BK}}{2{,}6\ \text{Serum}}$	

Das Blut jedes einzelnen Falles wurde sofort bis zur Darstellung des Trockenstromas weiterverarbeitet, dann im Schwefelsäure-Vakuumexsiccator aufbewahrt.

Der Volumquotient $\frac{1\ \text{BK}}{2{,}6\ \text{Serum}}$ erreicht lange nicht jene Zahlen, die wir bei schweren Anämien zu sehen gewohnt sind (bei An. pernic. sehen wir $\frac{1\ \text{BK}}{9\ \text{Serum}}$ und darunter[1]).

Der Grund liegt einmal darin, daß nicht alle Fälle eine Schädigung des Blutbestandes aufweisen; vor allem ist aber die bei manchen Carcinomkranken ausgesprochene Wasserverarmung des Körpers[2]) schuld daran, daß unter Verminde-

[1]) Beumer und Bürger, Beiträge zur Chemie des Blutes in Krankheiten. III. Mitteilung. Zeitschr. f. experim. Pathal. u. Therapie 13.

[2]) O. Leichtenstern, Untersuchungen über den Hämoglobingehalt des Blutes. Leipzig 1878. S. 84. — Osterpey, Die Blutuntersuchung und ihre Bedeutung bei Magenkrankheiten. Diss. Berlin 1892. — Vgl. auch v. Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. Berlin 1893. S. 461 ff.

rung der Serummenge eine relative Vermehrung der Blutkörperchen in der Volumeinheit zustande kommt. In solchen Fällen sagt natürlich weder die Zählung der Blutkörperchen noch die Bestimmung des Volumquotienten etwas aus über den Grad der Anämie: Die Gesamtblutmengen sind eben in solchen Fällen erheblich reduziert.

Wenn wir in folgendem zeigen werden, daß ein mit den bisherigen Methoden faßbarer Unterschied zwischen Carcinomblutkörpern und normalen sich nicht nachweisen ließ, so wollen wir die Frage für das anämische Blut überhaupt damit nicht entschieden haben. Denn unter der Gesamtmasse der untersuchten Blutkörperchen war sicher ein beträchtlicher Anteil vorhanden, der auch mit biologischen Methoden (Resistenzbestimmung) nicht vom gesunden Blutkörperchen zu unterscheiden ist. Spätere Untersuchungen werden sich mit einiger Aussicht auf Erfolg auf solche Fälle beschränken müssen, die alle Zeichen einer ausgesprochenen Blutschädigung aufweisen.

Das getrocknete Carcinomsammelstroma enthielt:

13,05% N
1,90% P_2O_5.

Das uns zu den vergleichenden Untersuchungen zur Verfügung stehende Ausgangsmaterial bestand aus 30 g Stroma von Carcinom-Erythrocyten und 28 g Stroma von Normal-Erythrocyten, gewonnen durch Venenpunktion an gesunden Menschen. Die Extraktmengen waren beim:

	Ätherextrakt:	Alkoholextrakt:	Totalextrakt:
Normalblut:	2,3284 = 9,7%	2,942 = 12,2%	21,9%
Carcinomblut:	2,1960 = 7,3%	3,160 = 10,7%	17,8%.

Beide hellgelb gefärbte Ätherextrakte bestanden zum größten Teil aus freiem Cholesterin. Es lieferten beim

Carcinomätherextrakt: 0,3226 g Subst. = 0,9270 Digitonin Chol. = 0,231 Chol. = **71,6%**,

Normalätherextrakt: 0,0887 g Subst. = 0,2670 Digitonin Chol. = 0,066 Chol. = **74%**.

Den Rest bildete ein acetonfällbares Phosphatid. Spuren von Phosphatiden blieben im Aceton gelöst.

In den Alkoholextrakten ließ sich durch Behandeln mit Äther das darin unlösliche Sphingomyelin abtrennen. Es entsprach in seinen Eigenschaften ganz dem aus den Hammelblutkörperchen gewonnenen. Es gelang jedoch die Reindarstellung nicht so gut.

Das Ätherunlösliche des NO-Extraktes ergab:

0,0564 g Subst. — 3,15 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,09 % P
0,1022 g „ — 5,50 $^{n}/_{2}$-NaOH = 2,98 % P
0,1457 g „ — 3,50 $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 = 3,36 % N
0,0634 g „ — 1,50 $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 = 3,31 % N.

Das Ätherunlösliche des Ca-Extraktes ergab:

0,0558 g Subst. — 3,45 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,4 % P
0,0970 g Subst. — 2,50 $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 = 3,6 % N.

Durch $CdCl_2$ ließ sich die Substanz rein darstellen. Die $CdCl_2$-Fällung enthielt 2,53 % P und 2,25 % N, das Verhältnis von N : P ist also = 2 : 1.

Der Alkoholextrakt enthielt bei

Carcinomerythrocyten 35 % Sphingomyelin,
Normalerythrocyten 31 % „

Wir halten uns vorläufig für nicht berechtigt, aus diesen geringen Differenzen irgendwelche Schlußfolgerungen zu ziehen. Da die Vergleiche bei den übrigen Fraktionen noch unsicherer werden, verzichten wir ganz auf eine Gegenüberstellung der gefundenen Werte.

Im Reste des Alkoholextrakts ließ sich wie bei den Hammelerythrocyten Kephalin und ein äther- und alkohollösliches Diaminomonophosphatid nachweisen. Daneben gelang es noch bei den menschlichen Erythrocyten, aus der Acetonfällung des Alkoholextraktes ein Phosphatid in geringen Mengen zu isolieren, das in kochendem Äther und Alkohol unlöslich, dagegen leicht und vollständig klar in Wasser löslich ist. Es bildet kleine spröde glänzende Blättchen, die wie Schellack aussehen. Sie geben keine Zuckerreaktion, keine Molisch-Kohlenhydratreaktion. Keine Biuretreaktion.

0,0367 g Subst. — 2,20 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,32 % P
0,0680 g „ — 4,10 $^{n}/_{2}$-NaOH = 3,34 % P
0,0695 g „ — 2,15 $^{n}/_{2}$-H_2SO_4 = 4,33 % N.

Wir haben dieses wasserlösliche Phosphatid schon in unserer früheren Mitteilung erwähnt. Leider ermöglichten auch hier die geringen Mengen keine nähere Untersuchung.

Zusammenfassend läßt sich sagen:

Lecithin ist in den Blutkörperchen bei Hammel und Menschen nur in sehr geringer Menge vorhanden.

Den überwiegenden Bestandteil der Phosphatide bei beiden Blutarten bildet das Sphingomyelin.

Daneben kommt Kephalin, ein ätherlösliches Diaminomonophosphatid und ein wasserlösliches Phosphatid vor.

Hammelblutkörperchen enthalten keine Cholesterinester.

Im Phosphatidgemisch von Carcinom- und Normalblutkörperchen wurden keine Differenzen gefunden.

Über die Reaktion zwischen Antikörper und gelöstem Antigen.

Von

Fritzi Krauß.

(Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 8. Oktober 1913.)

Durch eine Reihe von Untersuchungen (Weil, Weil-Spät, Tojosumi) wurde festgestellt, daß bakterielle Antigene die spezifischen Antikörper nur dann verankern, wenn sie als corpusculäre Elemente wirken. Im gelösten Extrakte hingegen tritt eine auf Bindung beruhende Reaktion zwischen Antigen und Antikörper nicht ein. Wenn man nämlich Bakterienextrakt und Immunserum mischt, beides eine Zeitlang aufeinander einwirken läßt und hierauf Vollbakterien hinzufügt, so entziehen dieselben quantitativ vollständig dem Gemisch die Immunkörper. Der Schluß, daß eine Verankerung zwischen Antigen und Antikörper in diesem Gemisch nicht zustande gekommen war, schien uns um so gerechtfertigter, als man auf Grund der bekannten Versuche von Neißer und Shiga den von Bakterien losgelösten, freien Receptoren eine größere Avidität für die Immunkörper zuschrieb als den Receptoren der Vollbakterien. Diese, vom Ehrlichschen Institut ausgehende Ansicht war allgemein anerkannt.

In den obenerwähnten Versuchen war also demnach eine starke Verankerung zwischen Immunkörper und den freien Receptoren der Extrakte zu erwarten, nicht aber eine Reaktion zwischen Immunkörper und Vollbakterien, zumal letzteren ja eine schwächere Avidität als den Extrakten zukommen soll. Die genannten Versuche wurden nun von Sachs jetzt in der Weise gedeutet, daß nicht die freien Receptoren, sondern die Receptoren der Vollbakterien eine größere Avidität für Im-

munkörper besitzen. Dadurch wurde es erklärlich, daß aus dem Gemisch Extrakt-Immunserum die Bakterien den Immunkörper binden. Allerdings setzt diese Anschauung die Annahme voraus, daß vorher zwischen Extrakt und Immunkörper bereits eine Bindung bestand. Diese Verankerung findet jedoch unserer Ansicht nach nicht statt, sondern es handelt sich, wie bereits vielfach erörtert wurde, um eine Reaktion zwischen Antigen und Antikörper ohne Bindung. Wir wollen auf die vielen Umstände, die auf Grund der bisherigen Experimente fast mit aller Sicherheit für diese Ansicht sprechen, hier absehen, um lieber durch eine Reihe weiterer Versuche diese Vorstellungen zu stützen.

Um zunächst zu sehen, ob die bisher für die Cholera und Tuberkelbacillen festgestellten Tatsachen auch für andere Migroorganismen gelten, haben wir die bereits genannten Versuche mit einem aus der Elbe gezüchteten Vibrio (aus der Sammlung von Prof. Dunbar und Trautmann, Hamburg) Vibrio $a = 10875/11$, leuchtend, vorgenommen. Durch 4malige, intravenöse Vorbehandlung eines Kaninchens mit je einer Öse dieses Vibrio erhielten wir ein Immunserum, das ziemlich stark komplementbindend wirkte. Für die Versuche waren nun jene Kautelen zu berücksichtigen, auf die in der dasselbe Thema betreffenden Publikation von Weil[1]) hingewiesen ist. Der wichtigste Umstand war der, das Immunserum in der Weise anzuwenden, daß es mit dem Extrakte keine Präcipitation mehr gab. Denn wäre nämlich eine solche vorhanden, so wäre es leicht möglich, daß durch das entstandene Präcipitat die Immunkörper ausgefällt würden, was natürlich zu groben Täuschungen Anlaß geben könnte. Durch 1stündiges Erhitzen auf 71° wirkte das Immunserum nur in geringer Weise präcipitierend, so daß der genannte Umstand, wie auch aus unseren Versuchen zu ersehen ist, keine Rolle spielte. Der Extrakt wurde derart bereitet, daß der Bakterieninhalt einer Kolleschen Schale mit 20 ccm NaCl abgespült, 2 Stunden bei 60° erhitzt und danach vollkommen klar zentrifugiert wurde. (Der Bodensatz wurde ebenfalls, wie später erwähnt ist, zum Versuch benutzt). In einem Vorversuch mußten wir uns zunächst über-

[1]) Diese Zeitschr. 24.

zeugen, ob auch hier dieselben Verhältnisse vorliegen wie bei Cholera, d. h.: ob dem Extrakt-Immunserum-Gemisch durch nachträglich hinzugefügte Bakterien Immunkörper entzogen werden. (Die Bakterien, die zur Behandlung der Extrakt-Immunserum-Gemische dienten, wurden aus den Bodensätzen der Extrakte genommen, und zwar deshalb, weil diese Bakterien bereits extrahiert sind, so daß durch den 1 stündigen Kontakt derselben mit dem Extrakt keine weitere Bakteriensubstanz in Lösung geht, was natürlich das Resultat der Versuche beeinträchtigen würde. Bezüglich der Bindung verhalten sich diese wie normale.)

Versuch 1.

I.	Extrakt	Immunserum 71° Verdünnung (1 : 5)		Resultat nach 1 Std. bei 37°
Extrakt - Immunserumverdünnungen nach 1 Std. ebenfalls zentrifugiert.	1. 0,1	0,125 (0,025 unverdünnt. Serum entsprech.)	Zu jedem Röhrchen 0,1 ccm Komplement (Meerschweinchenserum) und nach 1 stündigem Aufenthalt bei 37° je 1 ccm 5% mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisierter Hammelblutkörperchen.	0
	2. 0,1	0,050 (0,010 unverdünnt. Serum entsprech.)		0
	3. 0,1	0,025 (0,005 unverdünnt. Serum entsprech.)		schwach
	4. 0,1			komplett (Extrakt- und Immunser.-Kontrollen)
	5. —			„ (Extrakt- und Immunser.-Kontrollen)
II.	**Extrakt**			
Zu diesen Verdünnungen wird nach 1 Std. bei 37° je 1 ccm Vibrionenemulsion hinzugesetzt. Nach 1 Std. klar zentrifugiert und der Abguß zur weiteren Untersuchung benutzt.	1. 0,1	0,125		komplett
	2. 0,1	0,050		„
	3. 0,1	0,025		„
	4. 0,1	—		„
	5. —	0,125		„
Die Emulsion bestand aus dem 3. Teil des Bodensatzes der zur Extraktbereitung verwendeten Kolle-Schale Vibrio *a* + 10 ccm NaCl.				

Aus diesem Versuche geht hervor, daß auch hier ganz genau dieselben Verhältnisse vorliegen wie bei Cholera. Das auf 71° erhitzte Immunserum wirkte mit dem Extrakte, wie aus Kolumne I hervorgeht, nach dem Zentrifugieren noch stark komplementbindend, während nach der Behandlung mit Bakterien die komplementbindende Kraft in den angewendeten Dosen vollständig verschwunden war.

Es war nun notwendig zu untersuchen, ob in der Tat zwischen Bakterien und Extrakt derartige Aviditätsdifferenzen vorhanden waren, daß die bereits vom Extrakt gebundenen Immunkörper, durch die jetzt von **Sachs** angenommene, viel stärkere Avidität der Vollbakterien losgerissen werden. Um dies zu prüfen, stand uns folgendes Mittel zu Gebote: Wenn man Bakterien mit einer übermäßig großen Menge von Immunserum behandelt, so beladen sich diese mit Immunkörpern, das heißt: ihre aviden Gruppen werden besetzt. Wenn nun diese sensibilisierten Bakterien einem Extrakt-Immunserum-Gemisch zugesetzt werden, so wäre zu erwarten, daß sie diesem die komplementbindenden Immunkörper entziehen.

Beifolgend geben wir einen in diesem Sinne ausgeführten Versuch wieder (Versuch 2).

Versuch 2.

I.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		Resultat nach 1 Std.
Extrakt. Immunserumverdünnungen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	Nach 1 Stunde bei 37° alle Röhrchen klar zentrifugiert und zu jedem Abguß 0,1 ccm Komplement, zu den Abgüssen IV und V außerdem 0,1 ccm Extrakt. Nach einer weiteren Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 1 ccm 5%, mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	0 0 0 **stark**
II.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Zu diesen Verdünnungen nach 1 Stunde bei 37° je 0,6 ccm Bakterienemulsion. Vibrio a—1. (Der 3. Teil des Bodensatzes des aus einer Kolle-Schale bereiteten Extraktes + 10 ccm NaCl.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		**komplett** „ „ „
III.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert. (5 ccm Emulsion + 0,5 ccm nativem Immunserum sensibilisiert, nach $^1/_2$ Stunde zentrifugiert, der Satz 3 mal gut gewaschen und in 5 ccm NaCl aufgeschwemmt.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		**komplett** „ „ „

Versuch 2 (Fortsetzung).

IV.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		Resultat nach 1 Std.
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	Nach 1 Stunde bei 37° alle Röhrchen klar zentrifugieren und zu jedem Abguß 0,1 ccm Komplement, zu den Abgüssen von IV und V außerdem 0,1 ccm Extrakt. Nach einer weiteren Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 1 ccm 5‰ mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	komplett " " "
V.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		stark " " "
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Kontrollen	0,1 —	— 0,25		komplett "

Dieser Versuch zeigt zunächst die auffallende Tatsache, daß sich die sensibilisierten Bakterien genau so verhalten wie die unsensibilisierten, trotzdem es zu einer Absättigung ihrer bindenden Gruppen gekommen ist. Weiter geht daraus hervor, daß die sensibilisierten Bakterien die Immunkörper aus der Kochsalzverdünnung deutlich schwächer binden als aus dem Extrakt-Immunserum-Gemisch. Wir haben, um diese zunächst unverständliche Tatsache sicherzustellen, noch weitere Versuche angestellt (Versuch 3).

Dieser Versuch zeigt das zuletzt angeführte Ergebnis noch auffälliger, ebenso die Versuche 4, 5 und 6. Es fragt sich nun, auf welche Weise wir dies erklären sollen. Denn auf Grund dieser Versuchsergebnisse mußte man den Schluß ziehen, daß die Anwesenheit des Extraktes die Bindungskraft der sensibilisierten Bakterien erhöht, also genau das Gegenteil von dem, was eigentlich erwartet wurde.

Daß in der Kochsalzaufschwemmung die sensibilisierten Bakterien keine Immunkörper binden, ist leicht verständlich, da ja die bindenden Gruppen der sensibilisierten Bakterien bereits besetzt sind. Viel weniger jedoch sollte dies, wie bereits erwähnt, im Extrakt-Immunserum-Gemisch eintreten.

Versuch 3.

I.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		Resultat nach 1 Std.
Extrakt. Immunserumverdünnungen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	Nach 1 Stunde bei 37° wurden alle Röhrchen ganz klar zentrifugiert, zu jedem Abguß 0,1 ccm Komplement, zu den Röhrchen IV und V je 0,1 ccm Extrakt gegeben. Nach einer weiteren Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 1 ccm 5%, mit der 3 fachen Dosis sensibilisierten Hammelblutes.	0 0 0 Spürchen
II.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Zu diesen Verdünnungen nach 1 Stunde bei 37° je 0,6 ccm Bakterienemulsion. (Der 3. Teil des Bodensatzes des aus einer Kolle-Schale bereiteten Extraktes + 10 ccm NaCl.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		stark komplett „ „
III.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° je 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert. (5 ccm obiger Emulsion wurden mit 0,5 ccm nat. Immunserum sensibilisiert, nach ½ Stunde zentrifugiert, der Bodensatz 3 mal gut gewaschen und in 5 ccm NaCl aufgeschwemmt.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		komplett „ „ „
IV.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen je 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		stark komplett „ „
V.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen je 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,25 0,10 0,025		0 0 stark „
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Kontrollen	0,1 —	— 0,25		komplett „

Versuch 4. | Versuch 5 mit ders. Anordnung

I.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5	Resultat nach 1 St.		Resultat nach 1 St.
Extrakt. Immunserumverdünnungen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	0 0 0 Spur	I	0 0 0 0
II.	Extrakt	Immunserum 71°		II	
Zu diesen Verdünnungen nach 1 Stunde bei 37° je 0,6 Bakterienemulsion. Emulsion wie bei den vorigen Versuchen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	komplett " " "	Mit unsensibilis. Bakterien behandelt	komplett " " "
III.	Extrakt	Immunserum 71°		III	
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion einmal sensibilisiert wie bei den vorherigen Versuchen mit 0,5 nativem Immunserum.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	komplett " " "	Mit Bakt. sensibilis. mit nat. Immunserum	komplett " " "
IV.	Extrakt	Immunserum 71°		IV	
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert mit Immunserum 71°, u. zwar 5 ccm Emulsion mit 2,5 ccm Immunserum 71°, Verd. 1 : 5.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	komplett " " "	Mit Bakt. sensibilis. mit Immunserum 71°	komplett " " "
V.	NaCl	Immunserum 71°		V	
Nach 1 Stunde bei 37° wie bei II.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0.1	0,25 0,15 0,10 0,025	stark f. kompl. komplett "	Wie bei II	komplett " " "
VI.	NaCl	Immunserum 71°		VI	
Nach 1 Stunde bei 37° wie bei III.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	0 0 Spur komplett	Wie bei III	0 0 0 0
VII.	NaCl	Immunserum 71°		VII	
Nach 1 Stunde bei 37° Behandlung wie bei IV.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	0 wenig f. kompl. komplett	Wie bei IV	stark f. kompl. komplett "
	Extrakt	Immunserum 71°			
Kontrollen	0,1 —	— 0,25	komplett "		komplett "

(Vertical text in the table's middle column:) Nach $^3/_4$ Stunden bei 37° wurden alle Röhrchen ganz klar zentrifugiert, zu sämtlichen Abgüssen 0,1 Komplement, zu den Abgüssen von V, VI und VII außerdem 0,1 Extrakt gegeben und nach einer weiteren Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.

Es wäre, um dies zu erklären, zunächst folgendes Moment in Betracht zu ziehen: Man könnte annehmen, daß die ursprüngliche Anschauung, daß eine größere Avidität den freien Receptoren zukomme, doch zu Recht besteht, so daß die Receptoren der Extrakte die bereits von den Bakterien verankerten Immunkörper losreißen und durch Präcipitation ausgefällt werden. Dadurch wäre es dann erklärlich, weshalb die Extrakt-Immunserum-Gemische nach der Behandlung mit sensibilisierten Bakterien und nach dem Zentrifugieren unwirksam werden. Es sei jedoch gleich hier erwähnt, daß die Anschauung von der größeren Avidität der freien Receptoren, wie ja selbst Sachs jetzt annimmt, auf Grund unserer früheren Versuche zu Recht bestehen kann. Es wurden trotzdem eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Einwirkung der sensibilisierten Bakterien auf Bakterienextrakte zu studieren. Die Versuchsanordnung war folgende:

Versuch 6.

I	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		Resultat nach 1 Std.
Extrakt. Immunserumverdünnungen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	Nach 1 Stunde bei 37° werden alle Röhrchen ganz klar zentrifugiert, zu allen Abgüssen 0,1 ccm Komplement, zu den Abgüssen von III, IIIb, V und Vb außerdem 0,1 ccm Extrakt und nach einer weiteren Stunde bei 37° je 1 ccm 5°/o mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut gegeben.	0 0 0 0
II	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Zu diesen Verdünnungen nach 1 Stunde bei 37° 0,6 ccm Bakterienemulsion. Emulsion wie in den vorigen Versuchen.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		stark komplett " "
III.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert. (Sensibilisierung wie in den vorigen Versuchen.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0.15 0,10 0,025		fast komplett komplett " "

Versuch 6 (Fortsetzung).

IIIb.	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		Resultat nach 1 Std.
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion 2 mal sensibilisiert. (Die wie früher sensibilisierten Vibrionen werden nach dem Zentrifugieren noch einmal in 5 ccm NaCl aufgeschwemmt, mit 0,5 ccm nat. Immunserum sensibilisiert, sonst wie zuvor.)	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025	Nach 1 Stunde bei 37° werden alle Röhrchen ganz klar zentrifugiert, zu allen Abgüssen 0,1 ccm Komplement, zu den Abgüssen III, IIIb, V und Vb außerdem 0,1 ccm Extrakt und nach einer weiteren Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut gegeben.	fast komplett komplett " "
IV.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		Spur komplett " "
V.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion 1 mal sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		0 0 0 0
Vb.	NaCl	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Nach 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen 0,6 ccm Emulsion 1 mal sensibilisiert.	1. 0,1 2. 0,1 3. 0,1 4. 0,1	0,25 0,15 0,10 0,025		0 0 0 0
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1 : 5		
Kontrollen	0,1 —	— 0,25		komplett "

Eine bestimmte Menge Extraktes wurde zunächst mit unbehandelten Bakterien, dieselbe Menge dann mit Bakterien, die mit aktivem Immunserum sensibilisiert und die gleiche Menge Extraktes mit Bakterien, die mit auf 71° erhitztem Serum sensibilisiert waren, gemischt.

Versuche

I Extrakt 1 ccm + 0. (Zum Versuch 7 wurden je 2 ccm Extrakt behandelt.)

II Extrakt 1 ccm + 3 ccm Bakterienemulsion (Emulsion wie in den früheren Versuchen).

III Extrakt 1 ccm + 3 ccm Bakterienemulsion sensibil. mit 0,3 nat. Immunserum. Das Sensibilisieren dauerte 1/2 Stunde, während der öfter geschüttelt wurde. Die Bakterien wurden 5 mal gut gewaschen.)

Versuch 7

	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		Resultat nach 1 Stunde
Extrakt I unbehandelt	1. 0,25	0,25	0,1	Nach Aufenthalt von 1 Stunde bei 37° zu jedem Röhrchen je 1 ccm 5%, mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	0
	2. 0,25	0,15	0,1		0
	3. 0,25	0,10	0,1		0
	4. 0,25	0,025	0,1		0
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle Extrakt		komplett
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		
Extrakt II behandelt mit Bakterien, unsensibilisiert	1. 0,25	0,25	0,1		0
	2. 0,25	0,15	0,1		0
	3. 0,25	0,10	0,1		0
	4. 0,25	0,025	0,1		0
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle Extrakt		komplett
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		
Extrakt III behandelt mit Bakterien, sensibilis. mit nativem Immunserum	1. 0,25	0,25	0,1		komplett } schon nach 20 Min
	2. 0,25	0,15	0,1		"
	3. 0,25	0,10	0,1		"
	4. 0,25	0,025	0,1		"
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle Extrakt		"
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		
Extrakt IV behandelt mit Bakterien, sensibilis. mit Immunserum 71°	1. 0,25	0,25	0,1		0
	2. 0,25	0,15	0,1		0
	3. 0,25	0,10	0,1		0
	4. 0,25	0,025	0,1		komplett
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle		"

7, 8 und 9.

IV Extrakt 1 ccm + 3 ccm Bakterienemulsion sensibil. mit 1,5 Immunserum 71° Verd. 1:5.

V Extrakt 1 ccm + 0,3 nat. Immunserum.

VI Extrakt 1 ccm + 1,5 Immunserum 71° Verd. 1:5.

Alle Röhrchen 1 Stunde bei 37° wurden nach je 10 Minuten geschüttelt, dann klar zentrifugiert und die Abgüsse zum Versuch verwendet.

Versuch 8, mit derselben Versuchsanordnung unter Verwendung von nativen Immunseren zu Komplementbindungen				Versuch 9, mit genau derselben Versuchsanordnung wie 8		
Extrakt I	Immunserum nativ		Resultat nach 1 Stunde	Extrakt		Resultat nach 1 Std.
1. 0,2	0,05	Zu jedem Röhrchen je 0,1 Komplement und nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5% mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	0	Extrakt I unbehandelt	1.	0
2. 0,2	0,03		0		2.	0
3. 0,2	0,02		0		3.	0
4. 0,2	0,005		0		4.	0
5. 0,2	— Kontrolle		komplett		5.	komplett
Extrakt II	Immunserum nativ					
1. 0,2	0,05		0	Extrakt II behandelt mit Bakterien, unsensibilis.	1.	0
2. 0,2	0,03		0		2.	0
3. 0,2	0,02		0		3.	0
4. 0,2	0,005		stark		4.	stark
5. 0,2	— Kontrolle		komplett		5.	komplett
Extrakt III	Immunserum nativ					
1. 0,2	0,05		fast komplett	Extrakt III behandelt mit Bakterien, sensibil. mit nat. Immunserum	1.	mäßig
2. 0,2	0,03		komplett		2.	fast komplett
3. 0,2	0,02		„		3.	komplett
4. 0,2	0,005		„		4.	„
5. 0,2	— Kontrolle		„		5.	„
Extrakt IV	Immunserum nativ					
1. 0,2	0,05		0	Extrakt IV behandelt mit Bakterien, sensibil. mit Immunserum 71°	1.	0
2. 0,2	0,03		0		2.	0
3. 0,2	0,02		0		3.	0
4. 0,2	0,005		stark		4.	stark
5. 0,2	— Kontrolle		komplett		5.	komplett

Versuch 7

	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		Resultat nach 1 Stunde
Extrakt V behandelt mit nat. Immunserum	1. 0,25	0,25	0,1	Nach Aufenthalt von 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5% mit der 8fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	komplett
	2. 0,25	0,15	0,1		„
	3. 0,25	0,10	0,1		„
	4. 0,25	0,025	0,1		„
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle		„
	Extrakt	Immunserum 71° Verd. 1:5	Komplement		
Extrakt VI behandelt mit Immunserum 71°	1. 0,25	0,25	0,1		0
	2. 0,25	0,15	0,1		0
	3. 0,25	0,10	0,1		0
	4. 0,25	0,025	0,1		0
	5. 0,25	—	0,1 Kontrolle		komplett
	Immunserum 71°	+ Komplement			
Kontrolle	0,25	0,1			komplett

Nach einstündigem Einwirken wurden sämtliche Gemische ganz klar zentrifugiert. Hierauf wurde zu den Abgüssen Immunserum und Komplement und nach einer weiteren Stunde 5% sensibilisierte Hammelblutkörperchen hinzugefügt, um eine eventuelle Veränderung der Extrakte festzustellen. Auch wurde die gleiche Menge Extraktes sowohl mit aktivem als anderseits mit auf 71° erhitztem Serum gemischt, ebenfalls zentrifugiert, um eine eventuell eingetretene Präcipitation und Unwirksamkeit des Extraktes festzustellen. Anbei folgt das Resultat dieser Versuche. (Versuch 7, 8, 9.) Das auffallendste Ergebnis, das diese Versuche zeigen, ist die Tatsache, daß Bakterien, die mit aktivem Immunserum behandelt wurden, nach vollständiger Entfernung des nicht gebundenen Immunserums befähigt sind, den Extrakt zur Komplementbindung ungeeignet zu machen (Kolumne III) genau in derselben Weise wie aktives Serum, das als solches auf den Extrakt einwirkte (Kolumne V). Im letzteren Falle ist die Ursache darin gelegen, daß das aktive Serum,

und 9 (Fortsetzung).

Versuch 8, mit derselben Versuchsanordnung unter Verwendung von nativen Immunseren zu Komplementbindungen				Versuch 9, mit genau derselben Versuchsanordnung wie 8	
Extrakt V	Immunserum nativ		Resultat nach 1 Stunde	Extrakt	Resultat nach 1 Std.
1. 0,2	0,05	Zu jedem Röhrchen je 0,1 Komplement und nach 1 Stunde bei 37° je 1 ccm 5%, mit der 3fach lösenden Dosis sensibilisiertes Hammelblut.	stark	Extrakt V behandelt mit nat. Immunserum	1. fast komplett
2. 0,2	0,03		fast komplett		2. komplett
3. 0,2	0,02		komplett		3. „
4. 0,2	0,005		„		4. „
5. 0,2	— Kontrolle		„		5. „
Extrakt VI	Immunserum nativ				
1. 0,2	0,05		0	Extrakt VI behandelt mit Immunserum 71°	1. 0
2. 0,2	0,03		0		2. 0
3. 0,2	0,02		0		3. 0
4. 0,2	0,005		stark		4. stark
5. 0,2	— Kontrolle		komplett		5. komplett
	Immunserum nativ				
	0,05		komplett	Kontrollen	komplett

vermöge seiner präcipitierenden Kraft, die wirksamen Extraktbestandteile ausgefällt hat.

Es fragt sich nun, auf welche Weise das von den Bakterien verankerte, aktive Immunserum seine Wirkung auf den Extrakt ausübt. Zuerst müßte man an den bereits erwähnten, hier jedoch selbstverständlich nicht zutreffenden Umstand denken, daß vermöge der größeren Avidität der freien Receptoren diese den bereits an die Bakterien gebundenen Immunkörper an sich reißen und mit ihm in Reaktion treten. Weiter müßte man in Erwägung ziehen, ob hier nicht eine einfache Absprengung des Immunkörpers vorliegt, wie wir sie aus den Versuchen von Landsteiner, Bail, Rotky kennen.

Aus folgenden Gründen scheint uns dies jedoch nicht der Fall zu sein: Erstens gelingt die Absprengung hauptsächlich nur bei normalen Antikörpern leicht, nicht aber bei Immunantikörpern. Zweitens, wenn hier eine Absprengung vorläge, müßte dieselbe auch in jenen Proben stattgefunden haben, wo

die Bakterien mit Immunserum, das auf 71° erhitzt war, behandelt waren. In diesem Falle müßten dann die behandelten Extrakte stärker Komplement binden als die unbehandelten, was jedoch nicht der Fall ist. Auch müßte in diesem Falle der Extrakt, der mit Bakterien, die mit erhitztem Serum sensibilisiert wurden, behandelt war, Komplement binden, wenn Immunkörper von den Bakterien losgesprengt worden wären. Dies ist jedoch nicht der Fall, wie aus der Extraktkontrolle Versuch 5, Kolumne IV ersichtlich ist. Es ist also vorläufig diese Erscheinung nur damit zu erklären, daß Immunkörper auch dann noch eine Wirkung ausüben können, wenn ihre haptophore Gruppe ausgeschaltet ist. In unserem vorliegenden Falle wirken nun die bereits an den Bakterien gebundenen Immunstoffe trotz der Verankerung der haptophoren Gruppe in derselben Weise auf den Bakterienextrakt ein wie das native Serum. Diese Tatsache spricht dafür, daß die haptophore Gruppe nicht jene Bedeutung besitzt, die ihr allgemein zugeschrieben wird.

Da schließlich die Bakterien, die mit erhitztem Serum behandelt waren, den Extrakt intakt lassen (Kolumne VI), diese also bereits stark sensibilisierten Bakterien hingegen aus dem Extrakt-Immunserum-Gemisch die Immunkörper quantitativ binden (Versuch 4 und 5, Kolumne IV), so geht daraus wohl mit Sicherheit hervor, daß eine Bindung zwischen Extrakt und Immunserum vorher nicht bestand. Den nachträglich hinzugefügten Bakterien, deren bindende Gruppen ja zum größten Teil durch das Immunserum besetzt sind, kann man wohl kaum noch eine derartig starke Avidität zuschreiben, daß sie die bereits an die freien Receptoren des Extraktes gebundenen Immunkörper wieder losreißen. Auch geht aus allen unseren Versuchen hervor, daß die Immunkörper aus dem Extrakt-Immunserum-Gemisch quantitativ in derselben Weise gebunden werden wie aus dem Kochsalz-Immunserum-Gemisch, was wohl jedenfalls mit Sicherheit dafür spricht, daß vorher eine Verankerung zwischen Extrakt-Immunserum nicht zustande gekomman war. Wir müssen also auf Grund dieser neuerlichen Versuche an der Anschauung festhalten, daß zwischen gelöstem Antigen und Antikörpern eine Reaktion im Sinne einer Verankerung stattfindet.

Weitere Versuche behalten wir uns vor.

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei normalen, zuckerkranken und graviden Personen[1]).

Von

Aage Th. B. Jacobsen.

(Aus der Medizinischen Klinik der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 7. Oktober 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

Während die alimentäre Glucosurie seit der Mitte des vorigen Jahrhunderts bekannt ist und untersucht wurde, liegen erst aus den letzten 6 bis 7 Jahren Untersuchungen vor über das Verhalten des Blutzuckers bei Menschen nach Eingabe von Kohlenhydraten, namentlich Traubenzucker.

Ich habe nun den Blutzucker einer Reihe anscheinend normaler Personen nach der Einnahme von Kohlenhydraten, namentlich Traubenzucker und Stärke, nach Eiweiß, Fett, sowie nach Stärke und Fett untersucht und einen Teil dieser Versuche an Diabetikern und graviden Frauen wiederholt.

I.

a) Methodik.

Zur Blutzuckerbestimmung wurde Bangs Mikromethode[2]) benutzt, die vor anderen Methoden den großen Vorteil darbietet, daß man Serienuntersuchungen anstellen kann, da man zu jeder Bestimmung nur ca. 100 mg gebraucht; darin findet sich ja normaliter nur ca. $^1/_{10}$ mg Zucker. Eine so geringe Menge Zucker kann man nach Bangs Angabe mit $^1/_{50}$ bis $^1/_{100}$ mg Genauigkeit bestimmen. Zur Kontrollierung der Methode habe ich teils eine besondere Reihe Titrierungen reiner Zuckerlösungen angestellt, teils Blutproben untersucht, zu denen bekannte Mengen Zucker

[1]) Vorgetragen in verkürzter Form auf dem VIII. nordischen Kongreß für innere Medizin in Lund 1913.

[2]) Bang, Der Blutzucker. Wiesbaden 1913; diese Zeitschr. 1913.

gesetzt waren. Durch diese Kontrollbestimmungen ermittelte ich, daß man die genannten kleinen Mengen Zucker im Blut mit der von Bang angegebenen Genauigkeit bestimmen kann[1]). Es ist ratsam, die Reagenzien oft durch Titrierung reiner Zuckerlösungen zu kontrollieren, da eine Verunreinigung von Chemikalien, destilliertem Wasser usw., die meist zu hohe Werte ergeben, die Resultate vernichten.

Zur qualitativen Zuckerbestimmung im Harn wurden Liqu. Barreswille und Alméns Flüssigkeit benutzt. Zur quantitativen Bestimmung wurde Bangs Jodtitrierung bei größeren Zuckermengen, teils auch die Mikromethode und außerdem auch Lohnsteins Saccharometer benutzt. Zur Kontrollierung dieser Methoden unternahm ich Bestimmungen reiner Zuckerlösungen und zuckerhaltiger Harnproben, und zum Vergleich benutzte ich Bangs Hydroxylamintitrierung.

b) Die Blutzuckerkonzentration bei normalen Personen.

Es finden sich bekanntlich im Blute außer dem Zucker andere reduzierende Stoffe, und zwar oft in recht bedeutender Menge. Im allgemeinen versteht man unter der Zuckermenge im Blut die Summe der reduzierenden Substanzen. Es besteht die Möglichkeit, daß bei den verschiedenen Verfahren außer dem Zucker verschiedene Mengen der übrigen reduzierenden Stoffe bestimmt werden, woran man sich bei einem Vergleich der Angaben der verschiedenen Autoren über den Zuckergehalt des Blutes erinnern muß. Liefmann und Stern[2]), die ersten, die eine große Reihe Blutzuckerbestimmungen an normalen Individuen anstellten, fanden bei Knapps Verfahren Werte von 0,065 bis 0,105. Sie betrachten 0,11 °/₀ als Hyperglykämie. Leire[3]) fand mit der Mikromethode bei 15 Personen 0,06 bis 0,11 °/₀, bei 6 Personen 0,11 °/₀, Bang[4]) fand bei 3 Personen 0,10 bis 0,11 °/₀.

Ich selbst fand mit der Mikromethode bei 14 Personen 0,09 bis 0,116 °/₀: 0,09 in 3, 0,10 in 7, 0,11 in 3 Fällen und 0,116 in 1 Falle. Wie Bang angibt, kann man wahrscheinlich erst von Hyperglykämie reden, wenn der Blutzucker, nach der Mikromethode bestimmt, 0,12 °/₀ erreicht. Meine 14 Bestimmungen fanden morgens statt, bevor das Versuchsindividuum gegessen hatte. Wie aus den späteren Abschnitten hervorgehen wird, schwankt die Blutzuckerkonzentration nach den Mahlzeiten.

---

[1]) Untersuchungen über den Einfluß des Chloralhydrats auf experimentelle Hyperglykämien. Diese Zeitschr. 51, Heft 6, 1913.

[2]) Diese Zeitschr. 1, 299, 1906.

[3]) Bang, Der Blutzucker.

[4]) Ebenda.

II.

Der Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei normalen Personen.

A. Kohlenhydrate.

a) Traubenzucker.

Man nimmt bekanntlich allgemein an, daß normale Individuen nach 150 bis 200 g Traubenzucker Glucosurie bekommen, und Naunyn betrachtet eine Glucosurie nach 100 g Traubenzucker, der jedoch nicht bei nüchternem Ventrikel eingegeben sein darf, als Verdacht von Diabetes erregend, namentlich aber, wenn über 1% Zucker im Harn vorhanden ist oder die ausgeschiedene Menge 2% der eingegebenen übertrifft. Daß kleinere Mengen Traubenzucker Glucosurie ergeben können, zeigt u. a. Worm-Müllers[1]) Versuchsperson, die nach nur 50 g Glucosurie bekam. Linnosier und Roques'[2]) 3 Versuchspersonen hatten Glucosurie nach 100 g Traubenzucker. Von Autoren, die nach Eingabe von Traubenzucker sowohl Blut als Harn untersuchten, sollen Liefmann und Stern[3]), Baudouin[4]), Wacker[5]), Frank[6]) und Tachau[7]) genannt werden. Die Versuchsanordnung dieser Forscher war meist wie folgt: nach stattgefundener Blutzuckerbestimmung werden 100, 150 oder 200 g Traubenzucker eingegeben, worauf 1 und mitunter 2 Stunden danach wieder eine Blutzuckerbestimmung stattfand. Nach 150 g Traubenzucker und darüber ergab sich konstant Hyperglykämie; nach 100 g nur in einem Teil der Fälle, während in anderen keine Veränderung am Blutzucker nachzuweisen war; in einer 3. Gruppe fand sich gar Hypoglykämie.

Ich untersuchte den Harn von 15 Personen, und bei 14 davon auch den Blutzucker nach 100 g Traubenzucker. Die Blutzuckerbestimmungen fanden in diesen sowie in allen folgenden Versuchen mit kurzen Zwischenräumen statt; es gelang auch in einem Teile der Fälle, den Harn mit verhältnismäßig kurzen Zwischenräumen zu bestimmen. In den meisten Fällen wurde der Zucker 3 bis 4 Stunden nach der Morgenmahlzeit oder dem Frühstück eingegeben; 3 Personen wurde er nüchtern eingegeben. Der Zucker war meist in 250 g Wasser gelöst, und dasselbe Quantum Wasser wurde bei sämtlichen im folgenden genannten Versuchen mit Stärke, Fett usw. verabreicht. Um

---

[1]) Worm-Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. 34, 591, 1884.
[2]) Archives de médecine exp. 7, 249, 1895.
[3]) Diese Zeitschr. 1, 299, 1906.
[4]) Baudouin, Thèse de Paris 1908.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 197, 1910.
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 291, 1910/11.
[7]) Arch. f. klin. Med. 104, 432, 1911.

Tabelle

	1 E. B., 24 J., 74 kg		2 E. J., 24 J., 63 kg		3a H. H., 27 J., 70 kg		3b		4 C. S., 20 J., 59 kg		5 M. P. ♀, 19 J., 54 kg		6 F. Dj., 22 J., 70 kg		7 E. E. A., 23 J., 68 kg	
Zeitpunkt des Versuchs	Gut 2 Std. nach einer sehr leichten Morgenmahlz.		3 Std. nach dem Frühstück		Nüchtern				3 Std. nach der Morgenmahlzeit		2 Std. n. einer sehr leichten Morgenmahlzeit		Nüchtern		4 Std. nach der Morgenmahlzeit	
Präf. Blutzucker	% 0,083		% 0,097		% 0,10		—		% 0,103		% 0,092		% 0,098		% 0,093	
Traubenzucker	g 100		g 100		g 100		g 150		g 100		g 100		g 100		g 100	
Blutzucker:	%		%		%		%		%		%		%		%	
5 Min. später	0,10		0,116		—		0,13		0,103		0,097		0,10		0,10	
15 „ „	0,127		0,135		0,16		0,15		0,131		0,135		0,121		0,11	
30 „ „	0,121		0,135		0,15		0,14		0,152		0,117		0,118		0,174	
45 „ „	0,101	Harn O.Z.[1]	—		0,11		—		0,135		—		—	Harn O.Z.	—	
1 Std. „	0,10		0,115	Harn O.Z.	0,07		0,13		0,134		0,11		0,104		0,173	
$1^1/_2$ „ „	0,087		0,112		0,10	Harn O.Z.	—		0,136		0,109		0,105		0,16	
2 „ „	—	O.Z.	—		—		—		—		—		0,095	O.Z.	0,14	
$2^1/_2$ „ „	—		0,105	O.Z.	—		0,13		—		—		—		0,135	
3 „ „	—		—		—		—		—	Harn O.Z.	0,10	Harn O.Z.	—		0,118	
$3^1/_2$ „ „	—		—		—		0,06	Harn O.Z.	—		—		—		0,094	
4 „ „	—		—		—		—		—		—		—		0,077	80 ccm Harn 0,4 %
Zucker im Harn ausgeschieden	—		—		—		—		—		—		—		—	0,32 g

zu sehen, ob 250 g Wasser die Blutzuckerkonzentration beeinflussen, wurde in 2 Fällen dies Quantum Wasser allein verabreicht. Es war keine Veränderung der Blutzuckermenge nachzuweisen. In allen Fällen wurde der Harn vor den Versuchen nach einem oder mehreren der gewöhnlichen Verfahren qualitativ auf Zucker untersucht; das Resultat war negativ. Das Verhalten des Blutzuckers und Harns nach Traubenzucker, sowie Alter und Gewicht der Versuchspersonen usw. sind in Tabelle I verzeichnet; Fall 2 und 12 zugleich in Fig. 1 und 2.

Wie aus Tab. I ersichtlich, trat in allen Fällen Hyperglykämie, in 8 Fällen außerdem Glucosurie ein. Erstere

[1]) O.Z. = keine Reduktion.

I.

8 F. D., 22 J., 65 kg		9 F. W., 27 J., 70 kg		10 A. J., 27 J., 65 kg		11 G. T., 26 J., 78 kg		12 E. W., 21 J., 71 kg		13 T. P., 27 J., 75 kg		14 A. N. ♀, 17 J., 61,5 kg	
3½ Std.		2 bis 3 Std.		3 Std. nach dem Frühstück		3 Std.		4½ Std.		3½ Std.		2 Std. nach der Mittagsmahlzeit	
% 0,10		% 0,128		% 0,113		% 0,102		% 0,10		% 0,10		% 0,109	
g 100		g 100		g 100		g 100		g 100		g 100		g 100	
%		%		%		%		%		%		%	
0,119		0,128		0,129		0,10		—		0,117		0,125	
0,16		0,182		0,17		0,132		0,148		0,20		0,15	
0,215		0,194		0,193		0,188	17 ccm Harn 0,8%	0,185		0,22		0,19	
0,227		0,20		0,173	60 ccm Harn 1,5%	0,205		—	56 ccm Harn 0,5%	0,22		0,18	
0,193	36 ccm Harn 0,2%	0,173		0,143		0,209		0,142		0,13	200 ccm Harn 0,5%	0,127	
0,158		0,143	56 ccm Harn 0,6%	0,142	25 ccm 0,3%	0,139	29 ccm 3,3%	0,111	36 ccm 0,5%	—		0,125	
0,122		0,118	19 ccm schwache Redukt.	—		0,116		—		—		—	
0,114	O.Z.	—		0,089	12 ccm 0,3%	0,10	32 ccm 0,9%	0,09		—		—	
—		0,11		—		0,094	O.Z.	—	O.Z.	—		—	110 ccm Harn 0,56%
—		—		—		—		—		—		—	
—		—		—		—		—		—		—	
—	0,07 g	—	0,336 g	—	1,01 g	—	1,381 g	—	0,445 g	—	1,00 g	—	0,616 g

dauerte durchschnittlich 2 Stunden, von ³/₄ bis 3¹/₂ Stunden. Der Blutzucker begann in den meisten Fällen schon nach 5 Minuten zuzunehmen; das Maximum war nach ca. 30 Minuten erreicht; es hielt sich nur ganz kurze Zeit, dann nahm der Blutzucker wieder ab, meist langsamer als er zugenommen hatte. In einem großen Teil der Fälle folgte auf die Hyperglykämie eine Hypoglykämie. In 8 Fällen, wo Glucosurie eintrat, wurde von 0,06 bis 1,36 g ausgeschieden; in 3 Fällen über 1 g. Der Blutzucker nahm bis auf 0,174 bis 0,227% zu. Die Hyperglykämie dauerte in diesen Fällen durchschnittlich 2¹/₄ Stunden. Eine 9. Person schied 0,76 g Zucker aus. In diesem Falle fand keine Blutzuckerbestimmung statt. In den

6 Fällen, wo keine Glucosurie eintrat, nahm der Blutzucker nur bis auf 0,12 bis 0,16 $^0/_0$ zu; die durchschnittliche Dauer der Hygerglykämie war gleichfalls geringer, ca. $1^3/_4$ Stunden.

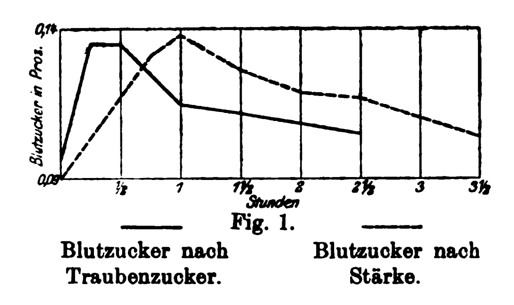


Fig. 1.

Blutzucker nach Traubenzucker. Blutzucker nach Stärke.

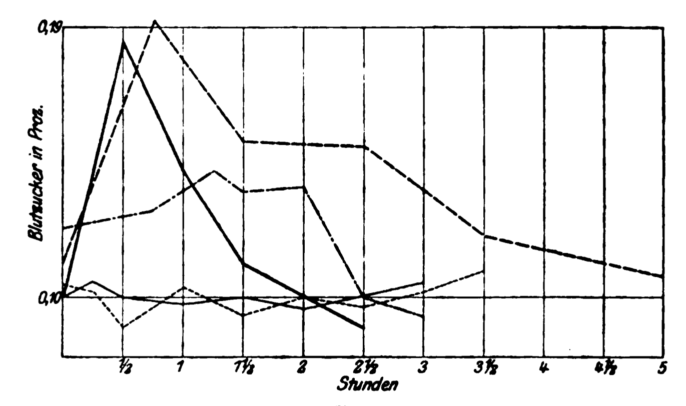


Fig. 2.

Blutzucker nach Traubenzucker.
" " Stärke.
" " " und Fett.
" " Fett.
" " Eiweiß.

Eine der Versuchspersonen, Nr. 3, erhielt außerdem 150 g Traubenzucker. Sowohl nach 100 g als nach 150 g trat dieselbe Blutzuckerzunahme ein, die Hyperglykämie dauerte aber nach letzterem Quantum 3 mal so lange. Es trat keine Glucosurie ein.

Wie erwähnt, fanden andere Autoren nach 100 g Traubenzucker nicht immer Hyperglykämie. Möglicherweise ist die Ursache darin zu suchen, daß sie die Blutzuckerbestimmung erst 1 Stunde nach der Eingabe ausführten und somit eine etwaige Hyperglykämie übersehen haben. So trat in einem meiner

Fälle, Nr. 3, eine bedeutende Blutzuckerzunahme ein, von 0,10 bis 0,16 %, die Hyperglykämie war aber 1 Stunde nach Eingabe des Traubenzuckers durch eine Hypoglykämie abgelöst. Die Hyperglykämie wäre also in diesem Falle übersehen worden, wenn erst 1 Stunde nach Eingabe des Traubenzuckers die Blutzuckerbestimmung stattgefunden hätte. In mehreren Fällen lag 1 Stunde nach der Traubenzuckereingabe eine ganz geringe Blutzuckervermehrung vor, während auch hier früher eine bedeutend größere Hyperglykämie bestanden hatte.

Auch in einem anderen, sehr wesentlichen Punkt unterscheiden diese Untersuchungen sich von denen anderer Autoren, nämlich durch die häufig vorkommende Glucosurie, in 9 von 15 Fällen. Möglicherweise ist die Ursache davon in der hier befolgten Versuchsanordnung zu suchen, indem der Harn oft portionenweise untersucht wurde, während die übrigen Forscher erst den gesamten Harn von ca. 4 Stunden nach der Traubenzuckereingabe zu untersuchen pflegen. Bei letzterem Verfahren könnte man vielleicht kleine Zuckermengen übersehen, wenn die kleinen zuckerhaltigen Harnportionen mit anderen, zuckerfreien verdünnt werden, wie z. B. in den Fällen 6, 7 und 8

Nach diesen Untersuchungen an anscheinend normalen Personen glaube ich nicht, daß man eine leichte Glucosurie nach 100 g Traubenzucker als diabetisches Symptom ansprechen darf.

b) Rohrzucker.

Einer der Versuchspersonen, Nr. 2, wurden 100 g Rohrzucker eingegeben, worauf eine Hyperglykämie ähnlicher Dauer und Größe eintrat wie nach 100 g Traubenzucker. Der Blutzucker nahm zu von 0,095 bis 0,135 %, und die Hyperglykämie war nach $1^1/_2$ Stunden verschwunden. Es trat keine Glucosurie ein.

c) Stärke.

Während man eine Glucosurie nach großen Mengen von Zucker nicht als pathologisch betrachtet, wird eine solche nach Stärke als diabetisches Symptom angesprochen. Strauss[1]) meint jedoch nach seinen Untersuchungen an Kranken, die zu alimentärer Glucosurie disponiert sind — an Nerven- und Geisteskrankheiten sowie an chronischem Alkoholismus leiden —, daß zwischen diesen beiden Formen von Glucosurie kein qualitativer, sondern nur ein quantitativer Unterschied besteht.

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 39, 226, 1900.

Tabelle

	1 E. B.		2 E. J.		3 H. H.		4 C. S.		7 E. E. A.		8 F. D.	
Zeitpunkt des Versuchs	2½ Std. nach der Morgenmahlzeit		2—3 Std. nach der Morgenmahlzeit		5 Std. nach d. Frühstück		3 Std. nach der Morgenmahlzeit		4 Std. nach der Morgenmahlzeit		4—5 Std. nach der Morgenmahlzeit	
Präf. Blutzucker	% 0,105		% 0,09		% 0,109		% 0,107		% 0,108		% 0,09	
Stärke	167 g Weißbrot											
Blutzucker:	%		%		%		%		%		%	
5 Min. später	—		0,12		0,142		—		0,159		0,166	
15 „ „	0,163		0,131		0,15		0,134		0,174		0,172	
30 „ „	0,125		0,138		0,12		0,138		0,145	38 ccm Harn 0,52%	0,175	
45 „ „	—	Harn O.Z.	—		0,11		0,122		—		—	
1 Std. „	0,118		0,126		0,13		0,10		0,143		0,151	
1½ „ „	0,102		0,119		—		0,122		0,109	43 ccm Harn 0,44%	0,135	
2 „ „	—		0,117		0,14		—		0,107		0,092	
2½ „ „	0,128	Harn O.Z.	—		0,142		0,127	Harn O.Z.	0,084		0,081	Harn O.Z.
3 „ „	—		0,104	Harn O.Z.	—		—		0,092	Harn O.Z.	—	
3½ „ „	—		—		0,11	Harn O.Z.	—		—		0,072	Harn O.Z.
4 „ „	—		0,10		—		—		—		—	
4½ „ „	—		—		—		—		—		—	
Zucker im Harn ausgeschieden	—		—		—		—		—	0,38	—	

Von 12 solchen Kranken, die alle nach 100 g Traubenzucker Glucosurie erhielten, hatten 8 gleichfalls Glucosurie nach 100 g Stärke, als 167 g Weißbrot eingegeben, oder nach Reis. Die Glucosurie nach Stärke war geringer als die nach dem Zucker, und Strauss meint, daß die Ursache darin zu suchen ist, daß die Umwandlung der Stärke verhältnismäßig langsam vonstatten geht und eine langsame Resorption des gebildeten Zuckers die Folge ist. Bang hat systematische Untersuchungen angestellt über den Einfluß der verschiedenen Kohlenhydrate auf den Blutzucker von Kaninchen, und dargetan, daß 10 g Stärke ungefähr ebenso starke Hyperglykämie ergeben wie 10 g Traubenzucker. Er sucht die Ursache davon, daß man bei normalen Menschen keine Glucosurie nach Stärke hervorrufen kann, im Ventrikel, der die stärkehaltige Kost langsamer als die Zuckerlösungen entleeren sollte.

II.

9 F. W.		10 A. J.		11 G. T.		12 E. W.		13 T. P.		14 A. N.		15 K. H.		16 J. B.	
4 Std.		4—5 Std.		4—5 Std.		3 Std.		4 Std.		3 Std.		3 Std.		3 Std.	
nach der Morgenmahlzeit															
% 0,105		% 0,103		% 0,08		% 0,112		% 0,09		% 0,10		% 0,10		% 0,099	
167 g Weißbrot															
%		%		%		%		%		%		%		%	
—		0,183		0,105		0,168		0,13		0,156		0,144		0,161	
0,138		0,206		0,149		0,192		—		0,197		0,155		0,156	
0,146		—		0,164		0,18		0,16		0,192		0,127		0,168	
0,16		—		—		—		—		0,20		—		—	
0,157		0,118		0,141	50 ccm Harn 0,3 %	0,152	43 ccm Harn 0,1 %	0,15	Harn O.Z.	0,186		0,125		0,138	
0,165	Harn O.Z. (0,06 %)	0,125	180 ccm Harn 0,4 %	0,092		—		0,16		0,16		0,125		0,12	
0,147		—		0,075	Harn O.Z.	0,15	53 ccm Harn 0,1 %	—		0,15		0,123		0,102	
0,108		0,077	40 ccm Harn 0,2 %	—		—		0,145	Harn O.Z.	—		0,109		0,094	
—		—		—		0,12		0,103		—	100 ccm Harn 0,7 %	0,108		0,10	Harn O.Z.
—		—		—		—		—		—		0,095	47 ccm Harn 0,13 %	—	
—		—		—		—		0,096	Harn O.Z.	0,154		—		—	
—		—		—		0,107		—		—	5½ Std. 40 ccm Harn 0,6 %	—		—	
—		—	0,80	—	0,15	—	0,096	—		—	0,94	—	0,061	—	

Ich habe an 14 Personen Blutzucker und Harn nach 100 g Stärke, als 167 g Weißbrot verabreicht, untersucht. 12 von den Versuchspersonen hatten früher Traubenzucker erhalten. Das Weißbrot wurde meist 4 bis 5 Stunden nach der Morgenmahlzeit verabreicht. Die Blutzuckerbestimmungen und Harnuntersuchungen sind in Tab. II, die Blutzuckerkurve von Nr. 2 und 12 außerdem in Fig. 1 und 2 verzeichnet.

In allen Fällen trat Hyperglykämie, in 6 außerdem Glucosurie ein. In einigen Fällen nahm der Blutzucker ebensoviel zu wie bei derselben Person nach Traubenzucker, aber langsamer, und er fiel in den meisten Fällen langsamer

bis auf den normalen Wert als nach Traubenzucker. Die Hyperglykämie dauerte von 2 bis 4 Stunden, durchschnittlich $2^3/_4$ Stunden. Der Blutzucker nahm bis auf 0,138 bis 0,206 % zu.

In den 6 Fällen, wo Glucosurie eintrat, wurden 0,06 bis 0,92 g Zucker ausgeschieden. Der Blutzucker nahm bis auf 0,155 bis 0,206 % zu. Die Hyperglykämie dauerte ca. $2^3/_4$ Stunden.

In den 8 Fällen, wo keine Glucosurie eintrat, nahm der Blutzucker bis auf 0,138 bis 0,175 % zu. Die Dauer der Hyperglykämie war ungefähr dieselbe wie in der vorigen Gruppe.

Wie man sieht, herrscht genaue Übereinstimmung zwischen Bangs Kaninchenversuchen über den Einfluß der Stärke und des Traubenzuckers auf den Blutzucker und diesen Versuchen an Menschen. In betreff der Glucosurie weisen die 12 Personen, die sowohl Stärke als Traubenzucker erhielten, folgende Verhältnisse auf:

4 Personen, Nr. 1, 2, 3 und 4, hatten weder Glucosurie nach Traubenzucker noch nach Stärke; 3 Personen, Nr. 8, 9 und 13, hatten Glucosurie nach Traubenzucker und 5 Personen, Nr. 7, 10, 11, 12 und 14, sowohl nach Traubenzucker als nach Stärke. Von letzteren schieden 4 weniger Zucker aus nach Stärke als nach Traubenzucker, und nur 1 Person, Nr. 14, mehr. Die Erklärung davon, daß die Glucosurie entweder unterblieb oder in den meisten Fällen geringer war nach 100 g Stärke als nach 100 g Traubenzucker, ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß der Blutzucker in einigen Fällen weniger und in allen Fällen langsamer zunahm nach Stärke als nach Traubenzucker. Ich glaube daher, daß Strauss darin recht hat, daß zwischen Glucosurie nach Zucker und nach Stärke nur ein quantitativer Unterschied besteht. Zwei von den Versuchspersonen, Nr. 5 und 6, bei denen nach 100 g Traubenzucker keine Glucosurie eintrat, erhielten 50 g Weißbrot. Bei beiden stellte sich eine geringe Blutzuckerzunahme ein, von 0,10 bis 0,12. Die Zunahme dauerte ca. $1^1/_2$ Stunde.

B. Eiweiß.

Um zu sehen, ob Eiweiß den Blutzucker beeinflußt, wurden in 2 Fällen 50 g Fleischpulver (Rausseau) verabreicht; ferner erhielt 1 Person 100 g Kalbfleisch und 1 Ei und schließlich 1 Person 80 g Gelatine (siehe Fig. 2). Die Blutzuckerbestimmungen sind in Tabelle III verzeichnet.

Tabelle III.

	4 C. S.	8 F. D.	11 G. T.	12 E. W.
	3 Std. nach der Morgenmahlzeit	3 Std. nach dem Frühstück	3 Std. nach dem Frühstück	nüchtern
Präf. Blutzucker	0,09%	0,103%	0,11%	0,104%
Eiweiß	100 g Kalbfleisch u. 1 Ei	50 g Fleischpulver	50 g Fleischpulver	80 g Gelatine
Blutzucker:	%	%	%	%
5 Min. später	0,10	—	0,102	—
15 " "	0,091	0,091	—	0,102
30 " "	0,10	0,103	0,105	0,09
45 " "	0,093	—	0,104	—
1 Std. "	0,105	0,092	0,105	0,103
1½ " "	0,101	0,092	0,105	0,094
2 " "	—	0,10	0,103	0,10
2½ " "	—	—	0,103	0,097
3 " "	—	0,103	0,106	0,102
3½ " "	—	—	—	0,109
4 " "	—	0,098	—	—

In keinem Falle trat deutliche Veränderung der Blutzuckerkonzentration ein.

C. Fett.

Um zu beurteilen, ob Fett die Blutzuckerkonzentration beeinflußt, wurden in 3 Fällen 75 g Olivenöl verabreicht. Die Blutzuckerbestimmungen sind in Tabelle IV, die Kurve von Nr. 12 in Fig. 2 verzeichnet.

Tabelle IV.

	4 C. S.	12 E. W.	15 K. H.
	3 Std. nach der Morgenmahlzeit	3 Std. nach der Morgenmahlzeit	2 Std. nach der Morgenmahlzeit
Präf. Blutzucker	0,089%	0,10%	0,10%
Fett	75 g Olivenöl		
Blutzucker:	%	%	%
5 Min. später	0,081	0,11	0,109
15 " "	0,086	0,105	0,103
30 " "	0,089	0,10	0,10
45 " "	0,085	—	—
1 Std. "	0,088	0,098	0,099
1½ " "	0,08	0,10	0,097
2 " "	—	0,096	0,10
2½ " "	—	—	—
3 " "	—	0,105	0,10

Ebensowenig wie Eiweiß hatte also Fett einen Einfluß auf den Zucker. Dagegen hatte Fett einen eigentümlichen Einfluß auf die Blutzuckerkurve nach Stärke.

D. Stärke und Fett zusammen.

Von den Versuchspersonen erhielten 6, die zuvor 165 g Weißbrot erhalten hatten, dasselbe Quantum Weißbrot mit 85 g Butter, was 75 g Olivenöl entspricht. Siehe Tabelle V und Fig. 2.

Tabelle V.

	4 C. S.		8 F. D.		12 E. W.		15 K. H.		7 E. E. A.		16 J. B.	
Zeitpunkt des Versuches	3 Stunden		4–5 Stunden		3 Stunden		3 Stunden		4 Stunden		3 Stunden	
	nach der Morgenmahlzeit											
Präf. Blutzucker	% 0,103		% 0,098		% 0,123		% 0,105		% 0,11		% 0,104	
Stärke und Fett	167 g Weißbrot und 85 g Butter											
Blutzucker:	%		%		%		%		%		%	
5 Min. später	0,115		0,098		0,128		0,095		0,115		0,152	
15 " "	0,107		0,13		0,129		0,11		0,115		0,13	
30 " "	0,109		0,154		—		0,11		0,11		0,128	
45 " "	0,112		—		0,142		—		—		—	
1 Std. "	—		0,138		0,135		0,118		0,094	49 ccm Harn 0,08 %	0,115	
1½ " "	0,116		0,13		0,137		0,119		0,104		0,132	
2 " "	0,116		0,102		0,10	53 ccm Harn 0,23 %	0,127		0,106	20 ccm Harn 0,12 %	0,105	
2½ " "	0.115	Harn O.Z.	0,104	Harn O.Z.	0,094		0,119		0,112		0,096	O.Z.
3 " "							0,115			O.Z.		
3½ " "							0,102					
4 " "							0,095	50 ccm Harn 0,13 %				
Zucker im Harn ausgeschieden						0,12 g		0,065 g		0,06 g		

Wie man sieht, trat in allen Fällen Hyperglykämie ein, sie dauerte ebenso lange wie nach Weißbrot allein, die Blutzuckerzunahme war aber bei gleichzeitiger Verabreichung von Fett bedeutend geringer. Nach Weißbrot allein nahm der Blutzucker bei diesen 6 Personen bis auf 0,138 bis

0,192 % zu, nach Weißbrot und Butter bis auf 0,116 bis 0,155 %. Eine der Versuchspersonen, Nr. 7, schied nach Weißbrot 0,37 g Zucker, nach Weißbrot und Butter aber nur 0,06 g aus, was einer viel geringeren Hyperglykämie in letzterem Falle als in ersterem entspricht. Die Erklärung des hemmenden Einflusses des Fettes auf die Hyperglykämie ist wahrscheinlich entweder darin zu suchen, daß das Fett die Stärke „einhüllt", so daß Speichel und Pankreassaft sie nicht so leicht umwandeln können, oder darin, daß das Fett die Entleerung des Ventrikels verzögert.

E. Gewöhnliche Kost.

Da es sich also zeigt, daß Kohlenhydrate sogar in ganz kleinen Mengen eine Vermehrung des Blutes ergeben, hätte man a priori zu erwarten, daß die Blutzuckerkonzentration tägliche, den Mahlzeiten entsprechende Schwankungen aufweise.

Leire[1]) untersuchte den Blutzucker bei 4 Patienten nach gewöhnlichen Mahlzeiten, die entweder aus Hafergrütze oder Brot und Milch bestanden, und stellte tatsächlich kleine Vermehrungen nach 1/2 bis 1, bisweilen 2 Stunden fest. Bang fand bei Hungerkaninchen nach stärkehaltigem Futter bedeutende Blutzuckerzunahme.

Ich untersuchte bei 3 Patienten, die an einem rheumatischen Leiden der Art. sacro iliaca, einer Colitis und einer traumatischen Neuritis nervi mediani erkrankt waren, den Blutzucker im Laufe des Tages. Sie bekamen 3 aus gewöhnlicher, kohlenhydrathaltiger Kost wie Brot, Grütze usw. bestehende Mahlzeiten. Die Blutzuckerbestimmungen, Kost usw. sind in umstehender Tab. VI, die Blutzuckerkurve von Th. Fig. 3 verzeichnet.

Wie man sieht, trat in allen Fällen eine Zunahme des Blutzuckers gleich nach den Mahlzeiten ein; dieselbe dauerte 1 bis 2 Stunden. Bei 2 von den Patienten, zwei Männern, stieg der Blutzucker bis auf 0,17 %, bei der 3. Versuchsperson, einem Weibe, bis

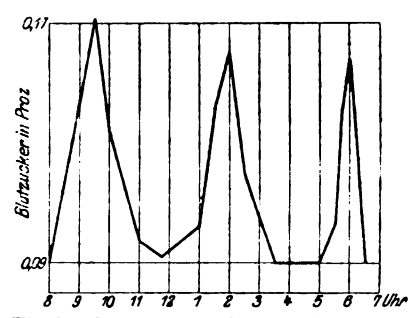


Fig. 3. Blutzucker nach gemischter Kost.

[1]) Angeführt nach Bang, Der Blutzucker.

auf 0,12 %; letztere aß aber auch bedeutend weniger als die Männer. Auch bei einigen der im vorhergehenden angeführten Personen untersuchte ich den Blutzucker nach gewöhnlichen kohlenhydrathaltigen Mahlzeiten und fand fast konstant eine Zunahme des Blutzuckers nach diesen Mahlzeiten.

Tabelle VI.

Th. 24 Jahre. 63 Kilo. Diagnose: Colitis. Hat Neigung zur Diarrhöe gehabt; war gesund, als der Versuch angestellt wurde.		M. P. ♀ Diagnose: Neuritis nervi mediani traumatica. Verträgt 100 g Traubenzucker, ohne daß Glucosurie entsteht; siehe Tab. I, Nr. 5.		R. 29 Jahre. 54 Kilo. Diagnose: Sacro-coxitis rheumatica.	
Zeitpunkt	Blutzucker %	Zeitpunkt	Blutzucker %	Zeitpunkt	Blutzucker %
Nüchtern 8 Uhr vorm.	0,091	Nüchtern 8 Uhr vorm.	0,102	Nüchtern 8 Uhr vorm.	0,09
1. Mahlzeit: Hafergrütze mit 10 g Zucker. 1 Tasse Saftwasser. 150 g Brot. 25 g Butter. Tee mit 7 g Zucker. Fertig mit dem Essen um 9 Uhr vorm.		1. Mahlzeit: Hafergrütze. Brot. Butter. Tee mit Zucker. Fertig mit dem Essen 8 Uhr 45 vorm.		1. Mahlzeit: Brot, Butter und Milch.	
9 Uhr vorm.	0,142	9 Uhr vorm.	0,115	10 Uhr vorm.	0,137
9^{30} „ „	0,172	9^{15} „ „	0,107	11 „ „	0,106
10 „ „	0,133	9^{45} „ „	0,104	12 „ „	0,115
11 „ „	0,097	10^{45} „ „	0,089		
11^{45} „ „	0,092	12^{15} „ nchm.	0,096		
1 „ nchm.	0,102				
2. Mahlzeit: Reis in Wasser gekocht mit 10 g Zucker, Fisch mit Kartoffeln. Fertig mit dem Essen 1 Uhr 20 nachm.		2. Mahlzeit: Reis in Wasser gekocht. Fisch mit Kartoffeln. Fertig mit dem Essen um 1 Uhr nachm.		2. Mahlzeit: Süße Suppe, Kotelett und Blumenkohl. Fertig mit dem Essen um 1 Uhr 30 nachm.	
1^{30} Uhr nchm.	0,142	1 Uhr nchm.	0,119	1^{30} Uhr nchm.	0,16
2 „ „	0,16	1^{15} „ „	0,12	2 „ „	0,148
2^{30} „ „	0,12	1^{30} „ „	0,128	2^{30} „ „	0,107
3^{30} „ „	0,09	2 „ „	0,104	3^{45} „ „	9,10
5 „ „	0,09	3 „ „	0,103	5 „ „	0,106
		4 „ „	0,098		
		5 „ „	0,096		
3. Mahlzeit: 170 g Brot, 30 g Butter. 1 Ei. Tee mit 7 g Zucker. Fertig mit dem Essen um 5 Uhr 30 nachm.		3. Mahlzeit: Brot, Butter, Tee mit Zucker. Fertig um 6 Uhr nachm.		3. Mahlzeit: Brot, Butter und Tee. Fertig mit dem Essen um 6 Uhr nachm.	
5^{30} Uhr nchm.	0,104	6^{15} Uhr nchm.	0,118	6^{40} Uhr nchm.	0,17
5^{42} „ „	0,14	6^{30} „ „	0,114	7^{40} „ „	0,13
6 „ „	0,158	7 „ „	0,111		
6^{30} „ „	0,09				

II. Der Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei Diabetikern.

A. Stärke.

5 Diabetiker bekamen nüchtern 50 g Weißbrot mit einem Stärkegehalt von ca. 30 g. Von ihnen hatten 3 ganz leichten, 2 schweren Diabetes. Die Krankengeschichte ist in Tab. VII verzeichnet, wo gleichfalls das Resultat der Blutzuckerbestimmungen nach der Stärkezufuhr angeführt ist; siehe auch Fig. 4.

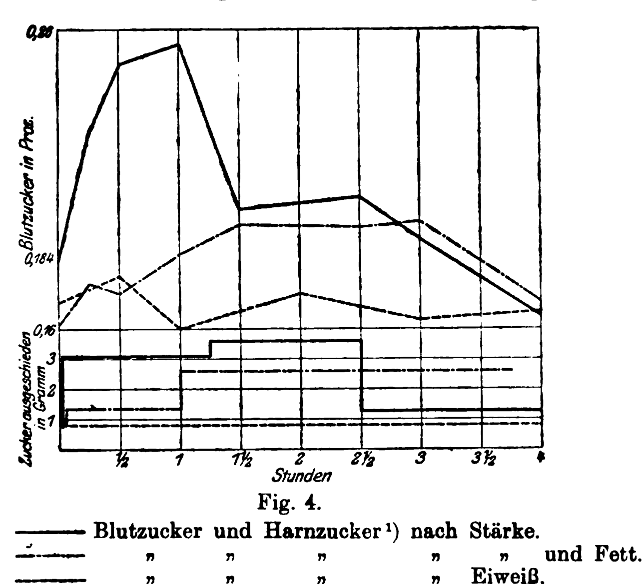


Fig. 4.

——— Blutzucker und Harnzucker[1]) nach Stärke.
–·–·– " " " " " und Fett.
- - - - " " " " Eiweiß.

Es trat in allen Fällen eine mehr oder minder starke Blutzuckervermehrung von einer Dauer von 3 bis 4 Stunden sowie Glucosurie ein.

Am geringsten waren Blutzuckervermehrung und Glucosurie bei Nr. 1 und 2, wo der Harn vor dem Versuch zuckerfrei war. Der Blutzucker nahm zu von 0,106 und 0,094 bis auf 0,135 und 0,143 %, und es wurde während des Versuches 0,47 und 0,27 g Zucker ausgeschieden. Bei Nr. 3, wo gleichfalls eine recht leichte Form von Diabetes vorlag, nahm der Blutzucker von 0,13 auf 0,181 % zu, und es wurden 0,77 g ausgeschieden. Am größten war die Blutzuckerzunahme bei Nr. 4 und 5, nämlich von 0,184 und 0,18 auf 0,255 und 0,28 %. Im Harn wurden

[1]) Der Zucker im Harn ist pro Stunde berechnet.

Tabelle VII.

	1 L. C. 62 Jahre. Diagnose: Obstipatio, Glucosurie, keine diabetischen Symptome. — Bei der Aufnahme im Krankenhaus 0,5% Zucker im Harn. Der Harn wurde zuckerfrei, als Patient gewöhnliche Kost ohne Zucker bekam.		2 E. K. 54 Jahre. Diagnose: Tumor mediastini, Diab. mell. Vor 6 Jahren wurde Glucosurie entdeckt; sonst nie diabetische Symptome. Bei der Aufnahme 0,2% Zucker im Harn. Bei gewöhnlicher Kost ohne Zucker schwand die Glucosurie.		3 N. J. 52 Jahre. Diagnose: Diabetes mellitus, Arteriosklerose. Vor 8 Jahren wurde Glucosurie entdeckt; sonst nie diabetische Symptome. Bei der Aufnahme 0,2% im Harn. Bei diabetischer Diät und 100 g Brot schwand die Glucosurie.		4 M. J. ♀ 60 Jahre. Diagnose: Diabetes mellitus. Hatte seit 7 Jahren diabetische Symptome. Durst, Polyurie, Müdigkeit, Furunkulose, Neuralgien. Bei der Aufnahme 4% im Harn. Bei diabetischer Diät und 20 g Brot schwand die Glucosurie.		5 H. C. ♀ 16 Jahre. Diagnose: Morbus Basedowii, Diabetes mellitus. Der Diabetes hatte sich während des Aufenthaltes im Krankenhaus entwickelt. Bei der Aufnahme (10. I. 1913) kein Zucker im Harn. Nach ein paar Monaten starke Diabeteserscheinungen: starker Durst, Hunger, Polyurie und Abmagerung. Im Harn ca. 7% Zucker. Bei diabetischer Diät und 30 g Brot schwand die Glucosurie fast; begann an Gewicht zuzunehmen.	
Präf. Blutzucker	0,106%	Harn O.S.	0,094%	Harn O.S.	0,13%	Harn O.S.	0,184%	Harn 2,6%	0,18%	Harn 0,36%
Stärke	50 g Weißbrot									
Blutzucker:	%		%		%		%		%	
5 Min. später	—		—		0,131		—		0,193	
15 „ „	0,106		0,105		—		0,226		—	
30 „ „	0,115		0,139		0,175		0,249		0,25	
1 Std. „	0,129	144 ccm Harn 0,1%	0,143	56 ccm 0,2%	0,181		0,255		0,28	140 ccm Harn 2,6%
1½ „ „	0,135		0,137		0,174		0,20	90 ccm Harn 4,3%	0,252	
2 „ „	0,12	72 ccm 0,37%	0,102	36 ccm 0,4%	0,143	86 ccm Harn 0,07%	—		0,219	158 ccm 4,8%
2½ „ „	—		—		—		0,204	94 ccm 4,8%	—	
3 „ „	0,107		0,11	33 ccm 0,15%	0,128	47 ccm 0,37%	0,19		0,216	42 ccm 4,4%
3½ „ „	—	102 ccm 0,07%	—		—		—		—	
4 „ „	0,095		—		—		0,164	54 ccm 3,8%	—	
Gramm Zucker ausgeschieden		0,47		0,27		0,77		10,32		13,04

während des Versuches ca. 10 und 13 g Zucker ausgeschieden. Diese beiden Patienten hatten im voraus Glucosurie, indem sie 0,80 und 0,15 g Zucker pro Stunde ausschieden. Im ersten Falle, wo 10 g Zucker ausgeschieden wurden, müssen davon 3 g abgezogen werden, und in dem letzten Falle von den ausgeschiedenen 13 g 0,6 g; zurück bleiben dann ca. 7 und 12 g Zucker, nach 30 g Stärke ausgeschieden. Es zeigt sich also, daß bei Diabetikern nach derselben Menge Stärke eine größere Blutzuckerzunahme eintritt als bei normalen Menschen. Die Blutzuckerzunahme ist am stärksten bei schwereren Diabetesfällen. Außerdem herrscht bei Diabetikern ein anderes Verhältnis zwischen der Blutzuckerzunahme und der Glucosurie als bei normalen Menschen, indem dieselbe absolute Blutzuckerzunahme bei Diabetikern eine weit größere Zuckerausscheidung veranlaßt als bei normalen Individuen. Bei einer der normalen Personen — siehe Fig. 2 — trat nach 165 g Weißbrot eine Blutzuckerzunahme von 0,112 auf 0,18 % ein; bei einem der Diabetiker (siehe Fig. 4) riefen 50 g Weißbrot eine Blutzuckerzunahme von 0,184 auf 0,255 % hervor. Die Zunahme dauerte in beiden Fällen ca. 4 Stunden und betrug ca. 0,07 %; während die „normale" Person 0,1 g Zucker ausschied, schied die diabetische ca. 70 mal soviel aus, nämlich 7 g. Bei einem der Patienten mit leichtem Diabetes nahm der Blutzucker von 0,13 auf 0,18 % zu, und es wurde 0,7 g ausgeschieden, also 7 mal soviel wie von der erwähnten „normalen" Person nach fast derselben Blutzuckerzunahme.

B. Eiweiß.

Zwei von den Patienten, Nr. 3 und 4, erhielten 200 g Fleisch und 1 Ei (siehe Tab. VIII und Fig. 4).

Tabelle VIII.

	3 N. J.		4 M. J.	
Präf. Blutzucker	0,135 %		0,169 %	Harn 2,4 %
Eiweiß	200 g Fleisch und 1 Ei			
Blutzucker:	%		%	
15 Min. später	0,12		—	
30 Min. "	0,11		0,178	
1 Std. "	0,104		0,16	
$1^1/_2$ " "	—		—	

Tabelle VIII (Fortsetzung).

	3 N. J.		4 M. J.	
Präf. Blutzucker	0,135 %		0,169 %	Harn 2,4 %
Eiweiß	200 g Fleisch und 1 Ei			
Blutzucker:	%		%	
2 Std. später	0,10	Harn O.Z.	0,172	84 ccm Harn 1,8 %
$2^1/_2$ " "	—		—	
3 " "	—		0,163	
4 " "	—		0,165	100 ccm Harn 1,6 %

Bei Nr. 3 nahm der Blutzucker ab, bei Nr. 4 hielt er sich nach der Eiweißzufuhr recht unverändert wie bei normalen Individuen.

C. Stärke nebst Fett.

Um zu sehen, ob Fett auch bei Diabetikern die Blutzuckerzunahme nach Stärke hemmen kann, wie bei normalen Individuen, wurden in zwei Fällen 50 g Weißbrot mit reichlich Fett, nämlich Schinken und Butter, verabreicht. Am Tage zuvor hatten die Patienten 50 g Weißbrot allein erhalten. Die Blutzuckerbestimmungen sind Tab. IX verzeichnet; siehe auch Fig. 4.

Tabelle IX.

	2 E. K.		4 M. J.	
	0,105 %		0,162 %	Harn 2,1 %
Stärke nebst Fett	50 g Weißbrot, 30 g Butter und 70 g Schinken			
	%		%	
15 Min.	0,129		0,175	
30 "	0,136		0,172	
1 Std.	0,13		0,185	
$1^1/_2$ "	0,128		0,194	
2 "	0,125	Harn O.Z.	—	
$2^1/_2$ "	—		0,194	
3 "	0,115		0,196	
$3^1/_2$ "	—		—	
4 "	0,123	Harn O.Z.	0,166	120 g Harn 4,3 %
Zucker ausgeschieden in g		O.		7,15

Namentlich bei Nr. 4 wirkte das Fett hemmend auf die Blutzuckerzunahme nach Stärke. Nach Stärke allein nahm der

Blutzucker von 0,184 auf 0,255 % zu, nach Stärke nebst Fett von 0,162 auf 0,194 %. Der geringeren Zunahme des letzteren Falles entsprechend, trat auch eine geringere Zuckerausscheidung ein, 4,4 gegen ca. 7 g nach Stärke allein. In einem anderen Falle war der Unterschied weniger ausgesprochen. Nach Stärke allein stieg der Blutzucker von 0,094 auf 0,143 %, und es wurde 0,27 ausgeschieden, nach Stärke und Fett von 0,105 auf 0,136 % und es trat keine Glucosurie ein.

D. Gewöhnliche Kost und antidiabetische Diät.

Bei 4 Diabetikern wurde im Laufe eines Tages der Blutzucker stündlich untersucht. Zwei von den Patienten bekamen gewöhnliche kohlenhydrathaltige Kost, 1 bekam Eiweiß-Fett-Gemüsekost, und 1 bekam Fett-Gemüsediät. Die Blutzuckerbestimmungen sind in Tab. X verzeichnet.

Die Blutzuckerkurve der beiden Patienten, die gewöhnliche Kost erhielten, ist der bei normalen Personen vorliegenden ähnlich, indem nach den Mahlzeiten Blutzuckerzunahme eintrat. Die Zunahme war aber größer und dauerte länger als bei normalen Personen. Bei Nr. 2, wo eine schwerere Form von Diabetes vorlag, sank der Blutzucker zwischen den Mahlzeiten nicht bis auf den Wert, der am Morgen vor der ersten Mahlzeit bestanden hatte. Nach dieser Mahlzeit stieg der Blutzucker von 0,18 auf 0,34 %, war nach 3 Stunden nur bis auf 0,21 % gesunken und stieg nach der Mahlzeit wieder bis auf 0,31 %; nach 4 bis 5 Stunden sank er dann nur bis auf 0,26 %. Bei dem anderen Patienten stieg der Blutzucker von 0,10 auf 0,15, 0,17 und 0,19 % und sank zwischen den Mahlzeiten auf 0,12 und 0,11 %. Bei dem Patienten, der Eiweiß-Fett-Gemüsediät erhielt, waren die Schwankungen geringer. Nach dem aus Ei und Schinken bestehendem Frühstück trat keine Blutzuckerzunahme ein. Nach der aus Fleisch und 300 g Kohl bestehenden Mittagsmahlzeit nahm der Blutzucker von 0,185 auf 0,236 % zu.

Noch geringer waren die Schwankungen bei Nr. 4 nach Fett-Gemüsediät. Bei den beiden letztgenannten Patienten fanden ungefähr jede Stunde Harnuntersuchungen statt; wie aus der Tabelle ersichtlich, trat nach Anfang der Blutzuckerzunahme eine beträchtlich vermehrte Zuckerausscheidung ein.

Tabelle X.

1. P. L. 41 Jahre.

Diagnose: Sclerosis disseminata. Diabetes mellitus. Niemals Diabetessymptome. Die Glucosurie wurde im Krankenhaus entdeckt. Der Harn wurde zuckerfrei bei Diabetesdiät und 25 g Brot.

Zeitpunkt	Blutzucker %
8 Uhr v.	0,10
1. Mahlz.: 75 g Brot, 20 g Butter, Käse, Wurst und Tee. Fertig mit dem Essen um 9 Uhr.	
9^{30} Uhr v.	0,15
10^{30} „ „	0,15
11^{45} „ „	0,12
2. Mahlz.: Reisbrei, Fleisch. Fertig mit dem Essen 1 Uhr 20 n.	
1^{30} Uhr n.	0,17
2 „ „	0,15
3^{15} „ „	0,15
5^{15} „ „	0,11
3. Mahlz.: 75 g Brot, Käse, Salat, Tee. Fertig mit dem Essen 5 Uhr 45 N.	
6^{15} Uhr n.	0,175
6^{30} „ „	0,185
6^{45} „ „	0,19
8^{30} „ „	0,13

2. J. L. ♀ 49 Jahre.

Diagnose: Diabetes mellitus. Die Erscheinungen sind erst einige Monate alt; namentlich Durst. Zuckerfrei bei Diabetesdiät und 25 g Brot.

Zeitpunkt	Blutzucker %
8^{45} Uhr v.	0,18
1. Mahlzeit: 120 g Brot, 25 g Butter, 75 g Fleisch, 150 g Milch. Fertig mit dem Essen 9 Uhr 10 vm.	
9^{20} Uhr v.	0,24
9^{40} „ „	0,34
10^{10} „ „	0,30
11^{10} „ „	0,25
12^{30} „ n.	0,21
2. Mahlzeit: Reis, Fisch und Kartoffeln. Fertig mit dem Essen 1 Uhr 45 nm.	
1^{45} Uhr n.	0,28
2^{45} „ „	0,28
3^{45} „ „	0,31
5^{30} „ „	0,26
3. Mahlzeit.: Brot, Butter, Käse, Wurst, Tee. Fertig mit dem Essen 6 Uhr nm.	
8^{30} Uhr v.	0,26

3. A. N. 31 Jahre.

Diagnose: Diabetes mellitus. Die Krankheit besteht seit einem Jahre, in welcher Zeit P. an Polyurie und Polydipsie und Abmagerung gelitten hat. Wurde trotz strenger Diät und „Gemüsediät“ nicht zuckerfrei.

Zeitpunkt	Blutzucker %	Gramm Zucker in der Stunde
8 Uhr v.	0,208	
1. Mahlzeit: Schinken und Ei.		
9^{15} Uhr v.	0,19	
10^{15} „ „	0,196	2,3
11^{15} „ „	0,196	3,6
12^{15} „ n.	0,196	3,1
2. Mahlzeit: Bouillon mit 1 Ei, 200 g Rindfleisch, 300 g Weißkohl und Butter. Rotwein.		
1^{15} Uhr n.	0,183	3,1
2^{15} „ „	0,185	3,9
3^{15} „ „	0,192	3,1
4^{15} „ „	0,195	4,5
5^{15} „ „	0,225	5,7
3. Mahlzeit: 200 g Fisch, Butter, 2 Eier.		
6^{15} Uhr n.	0,236	6,9

4. J. W. 33 Jahre.

Diagnose: Diabetes mellitus. Die Krankheit besteht seit einem Jahre. Starb nach kurzer Zeit im Koma.

Zeitpunkt	Blutzucker %	Gramm Zucker in der Stunde
11 Uhr v.	0,21	
12 „ „	0,22	2,76
1. Portion Kohlsuppe, 25 g Schweinefleisch, 200 g Kohl, Butter, Rotwein.		
1 Uhr n.	0,20	2,97
2 „ „	0,211	2,73
3 „ „	0,201	2,07
4 „ „	0,18	2,93
5 „ „	0,224	2,19
2. Mahlzeit: 300 g Kohl, Butter, Rotwein.		
7 Uhr n.	0,205	
8 „ „	0,195	
10 „ „	0,20	
1 „ v.	0,197	
6^{30} „ „	0,218	
8 „ „	0,192	

III.

Einfluß der Kohlenhydrate auf den Blutzucker bei Graviden.

Nach verschiedenen Angaben kommt bei Graviden recht häufig alimentäre Glucosurie vor, nicht nur nach Eingabe von Traubenzucker, sondern auch nach gewöhnlicher, gemischter Kost.

Schirokauer[1]) untersuchte den Blutzucker nach 100 g Traubenzucker und fand trotz der Glucosurie keine Hyperglykämie. In den letzten Jahren beschrieben von Noorden, sowie Novak, Porges und Strisower[2]) Fälle von Diabetes bei Graviden. Die Glucosurie unterscheidet sich von der des gewöhnlichen Diabetes dadurch, daß sie erstens in keinem nennenswerten Grade durch Diät beeinflußt wird und demnächst durch keine Hyperglykämie bedingt ist, was die letztgenannten Autoren dargetan haben.

a)

Ich habe an 6 Graviden, die nach gewöhnlicher Kost keine Glucosurie aufwiesen, Blutzucker und Harn nach Eingabe von 100 g Traubenzucker, und in einigen Fällen auch nach Stärke

Tabelle XI.

	1 16 Jahre I-para im 9. Monat		2 18 Jahre I-para im 9. Monat		3 18 Jahre I-para im 9. Monat		4 25 Jahre II-para im 9. Monat		5 18 Jahre I-para im 6. Monat		6 20 Jahre I-para im 6. Monat	
	%		%		%		%		%		%	
Präf. Blutzucker	0,095		0,10		0,095		0,094		0,105		0,097	
Traubenzucker	100 g Traubenzucker											
	%		%		%		%		%		%	
5 Min.	0,095				0,102							
15 „	0,119		0,114		0,126		0,109		0,124		0,110	
30 „	0,140		0,130		0,140		0,114		0,160		0,165	250 ccm Harn O.Z.
45 „					0,135		0,147	Harn O.Z.	0,160			
1 Std.	0,119	Harn O.Z.	0,105	Harn O.Z.	0,113				0,190		0,166	
1½ „	0,105				0,145	Harn O.Z.	0,141		0,205	230 ccm 0,1%	0,185	
2 „	0,100		0,124		0,130	O.Z.			0,205		0,174	170 ccm 0,8%
2½ „					0,108		0,105	160 ccm 0,17%				
3 „	0,094		0,114		0,108						0,140	39 ccm 3,7%
3½ „		O.Z.		O.Z.		O.Z.						
4 „												
Zucker ausgeschieden								0,27 g		0,23 g		2,8 g

[1]) Schirokauer, Berl. klin. Wochenschr. **1912**, 500.

[2]) Novak, Porges und Strisower, Deutsch. med. Wochenschr. **1912**, 1868.

untersucht[1]), siehe die Tabellen XI und XII. Der Traubenzucker wurde ein paar Stunden nach einer aus einem Zwieback und einer Tasse Tee bestehenden Morgenmahlzeit eingegeben.

Wie man sieht, trat bei allen Hyperglykämie und bei 3 auch Glucosurie ein. Bei den 3, die keine Glucosurie aufwiesen, stieg der Blutzucker bis auf 0,13 bis 0,14 $^0/_0$; bei den 3 anderen etwas mehr, bis auf 0,147, 0,205 und 0,185. In den Fällen Nr. 4 und 5 wurden 0,24 und 0,23 g Zucker ausgeschieden. Bei Nr. 5 konnte der Versuch jedoch nicht zu Ende geführt werden, da Patientin sich 2 Stunden nach der Traubenzuckereingabe erbrach. Nr. 6 schied nach einer Blutzuckerzunahme von 0,097 auf 0,185 $^0/_0$ 2,8 g Zucker aus. Diese Zuckerausscheidung ist doppelt so groß, als ich sie nach ähnlicher Blutzuckerzunahme bei irgendeiner der normalen Personen angetroffen habe.

Übrigens scheint eine recht gute Übereinstimmung zwischen den angeführten Graviden und den normalen Personen zu bestehen in betreff der Größe der Hyperglykämie und des Verhältnisses zwischen Hyperglykämie und Glucosurie nach 100 g Traubenzucker.

In einigen Fällen untersuchte ich Blutzucker und Harn nach Stärke, 50 und 100 g Weißbrot, siehe Tabelle XII.

Tabelle XII.

	5		7 26 Jahre II-para im 6. Mon.		6		8 19 Jahre I-para im 8. Mon.	
Präf. Blutzucker	$^0/_0$ 0,095		$^0/_0$ 0,105		$^0/_0$ 0,090		$^0/_0$ 0,087	
Stärke	100 g Weißbrot				50 g Weißbrot			
Blutzucker:	$^0/_0$		$^0/_0$		$^0/_0$		$^0/_0$	
5 Min.	—		—		0,110		0,100	
15 „	0,101		0,120		—		0,115	
30 „	0,120		0,120		—		0,123	
1 Std.	0,110		0,105		0,109		0,093	
1½ „	0,099		0,086		0,109		0,083	
2 „	0,089	Harn O.Z.	0,088	Harn O.Z.		Harn O.Z.		Harn O.Z.
2½ „								
3 „								

[1]) Die Untersuchungen fanden statt in der Gravidenabteilung des Reichshospitals, dessen Vorstand, Herrn Oberaccoucheur Hauch, ich meinen besten Dank dafür ausspreche.

In allen Fällen also eine geringe Blutzuckerzunahme, in keinem Falle Glucosurie.

b)

Anders verhielt es sich bei 4 Graviden, die nach gewöhnlicher gemischter Kost Zucker ausschieden, allerdings nur in kleinen Mengen. Es handelte sich um Glucosurie, nicht um Lactosurie, indem der frisch quittierte, gekochte Harn gärte.

1. 29 jährige I-para im 6. Monat. Im Harn wurde ganz wenig Zucker ausgeschieden und der Blutzucker, der einige Tage hindurch zur selben Zeit bestimmt wurde, betrug 0,07 bis 0,08 %. In einem Versuch wurden außer der gewöhnlichen Kost, Schinken und Eiern, 75 g Weißbrot verabreicht. Der Blutzucker nahm von 0,07 auf 0,095 % zu (0,07, nach 1/2 Std. 0,07, nach 1 Std. 0,07, nach 1 1/2 Std. 0,07, nach 2 1/2 Std. 0,095, nach 3 1/2 Std. 0,084, nach 4 1/2 Std. 0,08, nach 5 1/2 Std. 0,07 %). Im Harn, der vor dem Versuch 0,1 % Zucker enthielt, fand ich 2 und 4 Std. später 0,5 und 0,7 %, und es wurden in 4 Std. 2,35 g Zucker ausgeschieden.

2. 21 jährige I-para im 9. Monat. Der Tagesharn ergab kräftige Zuckerreaktion. Nach 50 g Traubenzucker nahm der Blutzucker von 0,094 auf 0,124 % zu (0,094, nach 15 Min. 0,124, nach 30 Min. 0,12, nach 1 Std. 0,118, nach 1 1/2 Std. 0,117, nach 2 Std. 0,116, nach 2 1/2 Std 0,082 %). Im Harn, der vor dem Versuch 0,1 % Zucker enthielt, fand sich nach 1 1/2 und 2 1/2 Std. 0,1 und 0,5 %; im ganzen wurde 0,59 g ausgeschieden. Nach 50 g Weißbrot nahm der Blutzucker von 0,092 auf 0,116 % zu (0,092, nach 15 Min. 0,105, nach 30 Min. 0,107, nach 1 Std. 0,116, nach 1 1/2 Std. 0,103, nach 2 1/2 Std. 0,085, nach 3 Std. 0,09 %). Im Harn fand sich 1 und 2 1/2 Std. nach Anfang des Versuches 0,5 und 0,5 % Zucker; es wurde im ganzen 0,71 g Zucker ausgeschieden.

3. 23 jährige I-para im 8. Monat. Die Gravidität war durch einen großen Ovarientumor kompliziert. Im Tagesharn Spuren von Zucker, ca. 0,1 %. Nach 100 g Traubenzucker, der ca. 2 Std. nach einer kleinen Morgenmahlzeit verabreicht wurde, stieg der Blutzucker von 0,109 auf 0,139 % (0,109, nach 15 Min. 0,11, nach 30 Min. 0,119, nach 1 Std. 0,119, nach 1 1/2 Std. 0,123, nach 2 Std. 0,139, nach 3 Std. 0,115, nach 4 Std. 0,10 %). Im Harn fanden sich 1, 2, 4 und 5 Std. nach Anfang des Versuchs 0,2, 0,38, 1,2 und 1,4 % Zucker, und es wurden im ganzen 3,6 g ausgeschieden.

4. 29 jährige I-para im 8. Monat. Nach 100 g Traubenzucker, der 2 Std. nach einer leichten Morgenmahlzeit verabreicht wurde, stieg der Blutzucker von 0,092 auf 0,149 % (0,092, nach 5 Min. 0,114, nach 15 Min. 0,138, nach 30 Min. 0,148, nach 1 Std. 0,149, nach 2 Std. 0,119, nach 2 1/2 Std. 0,12 %). Im Harn, der vor dem Versuch 0,12 % Zucker enthielt, fand sich 1 und 2 Std. später 0,25 und 0,5 %, und es wurden im ganzen 0,72 g ausgeschieden.

Das Charakteristische an diesen 4 Fällen ist, daß trotz eines normalen oder subnormalen Blutzuckergehalts Glucosurie vorlag, die allerdings sehr gering war, und außerdem, daß die Eingabe von Kohlenhydraten eine bedeutende Glucosurie hervorrief, obschon die Blutzuckerzunahme sehr klein war. Man scheint also in diesen Fällen mit einigem Recht von „Nierendiabetes“ zu sprechen.

Schließlich möchte ich das Verhältnis zwischen Blutzuckerzunahme und Glucosurie bei normalen Personen, Diabetikern und Graviden kurz resümieren.

Bei normalen Personen kann man durch Eingabe von Kohlenhydrat in der Form von Zucker und Stärke eine bedeutende Blutzuckerzunahme hervorrufen, bis auf ca. 0,16 bis 0,17 $^0/_0$, ohne daß Glucosurie eintritt. Bei größerer Zunahme tritt meist Glucosurie ein. Deren Größe hängt teilweise davon ab, wieviel der Blutzucker zunimmt, außerdem aber von der Geschwindigkeit der Zunahme. Stärke ergibt meist geringere Glucosurie als dasselbe Quantum Traubenzucker, obschon der Blutzucker oft in beiden Fällen gleich viel zunimmt, aber nach Stärke geht die Zunahme langsamer vonstatten als nach Zucker.

Bei Diabetikern ruft dieselbe Menge Kohlenhydrat viel größere Zunahme des Blutzuckers hervor als bei normalen Personen. Ruft man bei Diabetikern dieselbe absolute Zunahme hervor wie bei normalen Personen, z. B. indem man ein geringeres Quantum Kohlenhydrat verabreicht, so zeigt es sich, daß die Blutzuckerzunahme eine viel größere Zuckerausscheidung bei Diabetikern als bei normalen Personen veranlaßt.

Bei einigen graviden Frauen kann man trotz eines normalen oder subnormalen Blutzuckergehalts Glucosurie antreffen. Nach Einnahme von Kohlenhydrat bekommen sie trotz einer sehr geringen Blutzuckerzunahme eine bedeutende Glucosurie. Andere Gravide verhalten sich wie normale Frauen.

Herrn Prof. Dr. med. Kn. Faber sage ich meinen besten Dank für die Anregung und das Interesse, das er meiner Arbeit hat angedeihen lassen.

Kleinere Mitteilungen verschiedenen Inhalts.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

I.

Über die Beständigkeit der Invertase.

Die Enzyme, die den Abbau größerer Zuckermoleküle bewirken, besitzen recht ungleiche Beständigkeit. Viele von ihnen sind besonders gegen proteolytische Fermente empfindlich, d. h. sie werden unwirksam, wenn sie längere Zeit mit eiweißspaltenden Fermenten in Berührung sind.

Folgende Beobachtung tut die große Resistenz der Invertase dar.

Zu anderen Zwecken wurde am 3. Juni 1912 eine Autolyse von Preßhefe angesetzt, derart, daß 200 g Preßhefe mit 1000 ccm gesättigtem Chloroformwasser und weiteren 25 ccm Chloroform, sowie noch mit 25 ccm Toluol für 5 Tage in den Brutschrank gestellt wurden.

Der größte Teil des Gemisches, das sich in einer Glasstöpfelflasche befand, blieb dann bei Zimmertemperatur stehen.

Am 30. Juli 1913 wurde die Flasche geöffnet; der viel dünnflüssiger gewordene Inhalt roch noch stark nach Chloroform und Toluol.

a) Nach dem Umschütteln wurden 20 ccm entnommen, mit 50 ccm H_2O und 20 g Rohrzucker versetzt. Diese in einem Maßkolben mit Glasstopfen befindliche Mischung wurde 18 Stunden im Thermostaten aufbewahrt. Dann wurde das Gefäß durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlt und mit 10 ccm

kolloidaler Eisenhydroxydlösung sowie mit H_2O ein Volumen von 100 ccm hergestellt.

Das wasserklare Filtrat drehte stark nach links, und zwar im 100-mm-Rohr entsprechend — 4,0% Glucose.

b) Offenbar hatte im Versuche a) eine starke Inversion des Rohrzuckers stattgefunden. Um zu prüfen, ob die Hydrolyse nicht etwa auf einen Gehalt der autolysierten Hefe an Säuren zurückzuführen sei, wurden 20 ccm des Hefenautolysats mit 50 ccm Wasser am Rückflußkühler 30 Minuten im wallenden Sieden belassen Dann wurden 20 g Rohrzucker hinzugegeben und die Mischung wiederum für 18 Stunden im Brutschrank bei 37° belassen. Nach Herstellung des Volumens von 100 ccm mit 10 ccm Eisenlösung und Wasser usw. wie sub a) wurde eine stark rechtsdrehende Flüssigkeit erhalten, die im 100-mm-Rohr entsprechend + 12,5% Traubenzucker drehte.

c) Durch diese Kontrolle ist die Rohrzuckerspaltung als enzymatisch charakterisiert; sie ist auf unverändertes Invertin zurückzuführen.

Um über das optische Verhalten des Autolysats für sich Aufschluß zu erhalten, wurden 20 ccm desselben mit 50 ccm H_2O noch für 18 Stunden in den Brutschrank gestellt und dann mit Eisenlösung und Wasser genau wie zuvor auf ein Volumen von 100 ccm aufgefüllt. Drehung im 100-mm-Rohr entsprechend — 0,05% Glucose.

d) Über die Schnelligkeit, mit der die Invertinwirkung des Autolysats erfolgt, orientiert folgender Versuch.

Hefenautolysate enthalten an sich stets infolge Glykogenverzuckerung reduzierende Substanz[1]). Allein in einem so gründlicher Selbstverdauung unterworfenen Gemisch sind so viel kupferoxydullösende Substanzen vorhanden, daß eine mit Fehlingscher Mischung gekochte Probe sich nur grün färbt.

Digeriert man aber 20 ccm des Autolysats zusammen mit 80 ccm Wasser und 20 g Rohrzucker bei 38°, so gibt nach 15 Minuten die Mischung mit Fehlingscher Lösung die typische Gelbrotfärbung; nach 30 minütigem Stehen im Brutschrank erzielt man einen kräftigen Kupferoxydulniederschlag.

---

[1]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **54**, 398, 1908.

e) Am 16. bzw. 17. September 1913 wurden die Versuche a) bis d) wiederholt und fielen völlig gleichartig aus.

Invertase widersteht demnach einer 470tägigen Autolyse.

II.

Über die Beständigkeit von Carboxylase.

Gemeinsam mit P. Rosenthal habe ich gezeigt[1]), daß durch eine Reihe von physikalischen und chemischen Eingriffen lebende Hefen, Hefedauerpräparate und Hefemacerationssaft derart verändert werden können, daß Zucker nicht mehr vergärt, wohl aber Brenztraubensäure noch durch die Hefencarboxylase gespalten wird.

Es ist nun bemerkenswert, daß auch ohne beabsichtigte künstliche Einwirkungen längere Zeit aufbewahrte Trockenhefe Veränderungen erleiden kann, bei denen die Carboxylaseeinwirkung auf Brenztraubensäure erhalten bleibt, während für die Zuckervergärung notwendige Kräfte zerstört werden.

Im November 1911 aus Unterhefe K des Instituts für Gärungsgewerbe nach v. Lebedews[2]) Angaben bereitete Trockenhefe lieferte im September 1913 einen Macerationssaft, der eine 1 $^0/_0$ige Rohrzuckerlösung nicht mehr vergor. Invertase war reichlich vorhanden. Dagegen wurde 1 $^0/_0$ige Brenztraubensäure noch deutlich unter Bildung von Kohlendioxyd und Acetaldehyd durch denselben Macerationssaft zerlegt.

Die Versuche sind in der Weise angestellt, daß 20 ccm des Saftes mit 0,2 g Rohrzucker bzw. 0,2 g Brenztraubensäure versetzt und gut durchgeschüttelt wurden. Die Gärung wurde dann bei 32^0 in Schrötterschen Gärröhrchen beobachtet.

In der Brenztraubensäuremischung begann die CO_2-Entwicklung nach 6 Minuten, in der Rohrzuckerlösung war nach 24 Stunden noch keine Gärung zu erkennen.

Es muß jedoch bemerkt werden, daß bei einem Gehalt von 15 $^0/_0$ Saccharose nach 24 Stunden eine geringfügige Gärung konstatiert werden konnte.

---

[1]) C. Neuberg und P. Rosenthal, diese Zeitschr. **51**, 128, 1913.

[2]) A. v. Lebedew, Compt. rend. **152**, 49 u. 1129, 1911. — Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**, 447, 1911.

Solche Unterschiede von verdünnten und konzentrierten Zuckerlösungen haben Neuberg und Rosenthal bereits ausgeführt.

Da Macerationssaft aus frischer Trockenhefe, in dem 1% fester Rohrzucker gelöst ist, ohne weiteres in Gärung gerät, so hat unzweifelhaft eine Differenzierung in der Leistungsfähigkeit der Enzyme beim Stehen stattgefunden.

Die Trockenhefe K war in einer Blechdose aufbewahrt. Chemische Reize der Laboratoriumsluft sind nicht ganz auszuschließen; wahrscheinlicher aber dürfte die Annahme sein, daß auch in den trockenen Präparaten Enzymprozesse nicht völlig ruhen und daß diese die Carboxylase weniger als den empfindlichen Zymasekomylex schädigen.

Ein käufliches Präparat von Trockenhefe nach v. Lebedew, das seit 9. Dezember 1911 aufbewahrt wurde, lieferte einen Saft, der Brenztraubensäure wie Rohrzucker vergor, aber beide ziemlich abgeschwächt im Vergleich zu seiner Anfangswirkung.

III.

Über das optische Verhalten von Hefemacerationssaft.

(Mitbearbeitet von P. Rosenthal.)

Die bedeutsame Entdeckung A. v. Lebedews, ohne mechanische Zertrümmerung und ohne Pressung aus Hefe Säfte darzustellen, die verschiedene Fermentwirkungen der lebenden Hefen aufweisen, hat zu einer vielseitigen Verwendung des Macerationssaftes geführt.

Da sich zahlreiche Enzymvorgänge optisch verfolgen lassen, ist es wichtig, über das Drehungsvermögen des Macerationssaftes orientiert zu sein.

Hierüber hat v. Lebedew meines Wissens keine Angabe gemacht. Hefepreßsaft, der ja dem Macerationssaft sehr ähnlich ist, soll nach A. Wróblewski[1]) optisch inaktiv sein. Eine von Buchner[2]) beabsichtigte Nachprüfung dieses Befundes mißlang, da die optischen Eigenschaften des Hefepreßsafts die polarimetrische Untersuchung unmöglich machten.

Es ist klar, daß nur eine zufällige Superposition ver-

[1]) A. Wróblewski, Journ. f. prakt. Chem. 64, 4, 1901.

[2]) Buchner, Zymasegärung, S. 74.

schiedener Drehungsausschläge ein Substrat von der Natur des Hefepreßsafts optisch inaktiv machen könnte; denn es enthält ja Eiweiß und seine Spaltungsprodukte sowie Zuckerester!

Bei den zahlreichen Darstellungen von Hefemacerationssaft zum Studium der zuckerfreien Gärungen ist wiederholt eine optische Untersuchung des Saftes vorgenommen worden.

Bei richtiger Bereitung gelingt eine Prüfung des zweimal filtrierten Saftes im 50-mm-Rohr fast ausnahmslos. Gefunden ist eine Linksdrehung, die bei verschiedenen Proben zwischen $-0{,}10^{0}$ und $-0{,}42^{0}$ schwankte.

Bei Verwendung längerer Röhren hat man allerdings meist mit mangelnder Durchsichtigkeit zu kämpfen. Einmal konnte im 100-mm-Rohr abgelesen werden.

In einem mit Auerlampe versehenem Harnzuckerapparate wurde hier eine Drehung von $-0{,}3\,^{0}/_{0}$, also entsprechend $-0{,}6\,^{0}/_{0}$ Glucose beobachtet.

Von besonderem praktischen Interesse ist das optische Verhalten des Saftes beim Aufbewahren, da sich ja hierbei tiefgreifende enzymatische Prozesse abspielen.

Ein frisch bereiteter und auf Rohrzucker wie auf Brenztraubensäure als gärkräftig befundener Saft drehte unmittelbar nach Darstellung im 50-mm-Rohr $= -0{,}18^{0}$.

50 ccm des Saftes, die unter Zusatz von Toluol 3 Tage bei Zimmertemperatur gelagert hatten, drehten nach Filtration im 50-mm-Rohr $= -0{,}33^{0}$.

50 ccm desselben Saftes, die mit Toluol 4 Tage im Brutschrank gestanden hatten, zeigten nach Filtration im 50-mm-Rohr eine Linksdrehung $= -0{,}37^{0}$.

Auch durch einfaches Erwärmen des Saftes kann man eine Drehungsänderung erzielen. Erhitzt man z. B. den gleichen Saft 6 Minuten auf 51^{0}, so erfolgt eine starke Eiweißgerinnung. Das völlig durchsichtige, schwach gelb gefärbte Filtrat des Koagulums, das noch wirksame Carboxylase enthält, zeigte eine Drehung von $-0{,}35^{0}$ im 100-mm-Rohr.

Trotz der Eiweißfällung war die Drehung fast unverändert (s. oben $-0{,}18^{0}$ im 50-mm-Rohr). Offenbar macht sich also jetzt ein stärker lävogyrer Körper geltend. An den Ver-

schiebungen dürften sich Derivate der Proteine wie der Kohlenhydrate beteiligen, die im Macerationssaft vorhanden sind.

Der Gehalt des Macerationssaftes an Fermenten, an Trockensubstanz und an den einzelnen Komponenten (wie Eiweiß und Kohlenhydratestern) ist schwankend, und zwar mit der Macerationsdauer, mehr noch mit dem Zustande der Trockenhefe. Es kann deshalb nicht Verwunderung erregen, wenn auch ein anderes optisches Verhalten des Saftes beobachtet wird.

So zeigte ein anderer Saft, bereitet aus getrockneter Unterhefe D, beim Stehen keine Drehungszunahme, sondern eine Abnahme.

Anfangsdrehung	$-0{,}24^0$
Nach 5 tägiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur unter Toluolzusatz	$-0{,}16^0$
Nach 5 tägiger Aufbewahrung bei 38^0 unter Toluolzusatz	$-0{,}11^0$

Der Hefemacerationssaft ist also optisch-aktiv und es können sich in ihm Drehungsänderungen beim Stehen oder Erwärmen abspielen[1]).

IV.

Beobachtungen über die Triketohydrindenreaktion.

Bei der Digestion von Hefanol mit Wasser und nachfolgender Destillation fanden C. Neuberg und J. Kerb[2]) ein Destillat, das auf Zugabe von Nitroprussidnatriumlösung eine Blaufärbung gab, ganz wie sie bei der Riminischen Reaktion auftritt. Letztere kommt durch das Zusammenwirken von Acetaldehyd, von einem sekundären Amin und von Nitroprussidnatrium zustande. Die gleiche Beobachtung konnte auch bei entsprechender Behandlung von Lebedew-Hefe gemacht werden.

Die Entstehung des Acetaldehyds bei der Digestion von Hefepräparaten ist ausreichend erklärt[2]), nicht dagegen die

---

[1]) Wenn E. Abderhalden, C. Froelich und D. Fuchs jüngst anführen (Zeitschr. f. physiol. Chem. **86**, 468, 1913), daß der Hefemacerationssaft optisch-inaktiv bleibe, so findet diese Angabe in der geringen von ihnen verwendeten Saftmenge und deren Verdünnung eine ausreichende Erklärung.

[2]) C. Neuberg und J. Kerb, diese Zeitschr. **43**, 498, 1912.

Herkunft des aminartigen Produkts. In der Vermutung, daß es sich um einen Eiweißabkömmling handeln könne, ist mit dem Destillat die Triketohydrindenreaktion[1]) angestellt worden.

Das auf Lackmus deutlich alkalisch reagierende Destillat gab die Probe zunächst nicht, wohl aber trat sie nach voraufgegangener Neutralisation mit Essigsäure in typischer Weise, wenn auch nicht übermäßig kräftig, auf.

Diese Beobachtung, die zu wiederholten Malen gemacht werden konnte, ist Veranlassung gewesen, andere flüchtige Amine und weiterhin noch andere stickstoffhaltige Substanzen, die keine Aminosäuren sind, zu prüfen.

Es ergab sich das überraschende Resultat, daß eine große Reihe von Verbindungen mit dem Triketohydrindenhydrat in beinahe typischer Weise, d. h. fast genau wie Aminosäuren, diese prächtige Reaktion liefern.

Wie jüngst von W. Halle, E. Loewenstein und E. Přibram[2]) mitgeteilt haben, gaben auch reduzierende Zucker und aliphatische Alkohole unter Umständen Blaufärbung mit Triketohydrindenhydrat. Allein die Bedingungen hierfür sind ganz besondere: Zucker oder Alkohole müssen in Substanz angewendet werden, da Wasserzusatz die Farbbildung verhindert, oder es muß nachträglich $5^0/_0$ige Natronlauge zugefügt werden. Jedenfalls sind diese Verhältnisse derart, daß sie zur Verwechslung mit Aminosäuren nicht Anlaß geben.

Anders sind die Beobachtungen zu beurteilen, die jetzt an Aminen, Aminoaldehyden, Aminosulfonsäuren, Ammoniumsalzen organischer Säuren usw. gemacht sind. Hier tritt die Farbstoffbildung ganz ähnlich wie bei Aminosäuren ein.

Vorweg sei bemerkt, daß die freien Amine oder ihre Chlorhydrate in einigen Fällen keine Reaktion geben, wohl aber die Salze[3]) dieser Amine mit schwachen Säuren wie mit Essigsäure, Phosphorsäure oder Borsäure.

---

[1]) S. Ruhemann, Chem. Soc. **97**, 2025, 1910; **99**, 792 und 1486, 1911.

[2]) Diese Zeitschr. **55**, 357, 1913.

[3]) Bereitet durch Neutralisation mit der Säure oder durch Umsetzung des Chlorids mit Natriumacetat, Natriumphosphat oder Borax.

Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die bisherigen Befunde:

	Freies bzw. kohlensaures Salz	Chlorhydrat	Acetat	Bemerkungen
Methylamin	+		+	
Äthylamin	+		+	
Isobutylamin . . .	+ (etwas rotstich.)		+ +	
Isoamylamin			+	
Hexylamin	rötlich		erst rötlich, beim Stehen blau	
Benzylamin	rotstichig		+	
Phenyläthylamin . .	+		+	
p-Oxyphenyläthylamin	+		+	
β-Imidazoläthylamin[1])	+		+	
p-Indoläthylamin[1]) .	+		+	
Adrenalin[2])	+ (anfangs rötlich, dann beim Stehen fast typisch)		+	
d-Suprarenin	+ (anfangs rötlich, dann beim Stehen fast typisch)		+	
Aminoäthylalkohol .	rotstichig	blaurot	blaurot	
Äthylendiamin . . .	blaurot		+	
Tetramethylendiamin	rotstichig		rotstichig	
Pentamethylendiamin	violettstichig		violettstichig	
Taurin (Salze) . . .				Bei Gegenwart von Na-Acetat, Phosphat, Borat oder $CaCO_3$ enorme Reaktion.
Aminoacetaldehyd[3]) .	+		+	Rötlich.
Aminoacetal	+		+	
d-Glucosamin . . .	+	schwach	+	
ω-Aminoacetophenon		feuerrot	+ (violettstichig)	
Ureidoglucose . . .	+			Erst nach 2 Min. deutlich.
Allantoin				Rötlich (erst nach längerem Kochen deutlich)[4]).

[1]) Präparat von Hoffmann-La Roche.

[2]) Präparat der Chem. Werke vorm. Dr. Byk.

[3]) Dargestellt nach E. Fischer, Ber. 26, 82, 1893.

[4]) In Bestätigung der Angaben von C. Funk, Biochem. Journ. 7, 213, 1913.

Ammoniaksalze.

Ammonium-bicarbonat (carbaminsaur. Ammonium (?)	+ (schwach u. schmutzig violett)		Essigsaures Ammon		nach 2 Min. schwach violett
Brenztraubensaures Ammon	+		Glykolsaures Ammon	+	erst nach 2 Min. und schwach
Aldehydglycerinsaur. Ammon	+		Glycerinsaures Ammon	+	schwach
Glucuronsaures Ammon	+		Milchsaures Ammon	+ (deutlich)	nach 1½ Min. stärker
Mesoxalsaures Ammon	+		Fumarsaures Ammon	+	
Oxymaleinsaures Ammon	+		Maleïnsaures Ammon	+	
Oxyfumarsaures Ammon	+		Tricarballylsaures Ammon	+	schwach, beim Stehen stärker
Dioxoweinsaures Ammon		atypisch rot	Äpfelsaures Ammon (neutral)	+ (schwach)	erst nach 1½ Min.
Acetondicarbonsaures Ammon	+	deutlich erst nach 2 Min.	Weinsaures Ammon (neutral)	+ (schwach)	
Phenylglyoxalsaures Ammon	+	schwach, nach 1½ Min. stärker	Citronensaures Ammon (neutral)	+ (schwach)	nach 2 Min. kräftig
Phenylbrenztraubensaures Ammon	+	nach 2 Min. kräftig			

Nach dem Kochen mit NH_3 und Verdampfen des überschüssigen Ammoniaks.

Glyoxal	(schwach rotstichig)	
Phenylglyoxal . .	+	Nach 1½ Min. stärker.
Alloxan	+	Nach Zusatz von NH_3 muß bis zur Entfärbung gekocht werden; setzt man dann Triketohydrindenhydrat hinzu, so tritt sofort eine intensive, auch in der Hitze beständige Färbung ein.
Bromalhydrat . .	+	
Parabansäure . .	+ (schwach)	Nach 2 Min. stärker.

Anhang.

Einige bisher nicht geprüfte Aminosäuren sowie Histon.

Isoserin	+
δ-Aminovaleriansäure	+ (frei und als Acetat)
α-α_1-Diaminokorksäure	+
Histon (aus Thymus)	+

Die Proben sind als positiv bezeichnet, wenn nach 1-minütigem Erwärmen die Blaufärbung eintrat. Die Nuance schwankt zwischen Tiefblau und Violettblau. Abweichungen sind besonders angegeben.

Die Zahl der angeführten, positiv mit Triketohydrindenhydrat reagierenden Substanzen ließe sich gewiß vermehren.

Betrachtet man diese Liste, so kann man, namentlich im Vergleich mit den nicht reagierenden Verbindungen (s. unten), unschwer zu einem Urteil über die Bedingungen gelangen, die für das Zustandekommen der Reaktion erforderlich sind. Man kann folgende Gruppen unterscheiden:

1. Amine. Eine große Anzahl derselben gibt namentlich in Verbindung mit schwachen Säuren, wie Essigsäure, Borsäure, Phosphorsäure und Kohlensäure, direkt eine positive Triketohydrindenreaktion.

2. Aminoaldehyde. Sie geben in freier Form oder als Salz mit einer schwachen Säure eine positive Reaktion[1]).

3. Harnstoffderivate (Ureidoglucose, Allantoin) geben positive Reaktion, wenn auch langsam, letzteres mit rotstichiger Nuance.

4. Eine organische Aminosulfosäure, das Taurin, gibt, in Form seiner Salze, die Reaktion mit größter Stärke, in der Nuance der Aminosäuren.

5. Ammoniaksalze von Aldehyd- und Ketonsäuren geben eine unverkennbar positive Reaktion. Dieser Umstand verdient besonderes Interesse, da die Vertreter dieser Gruppe im intermediären Stoffwechsel allem Anscheine nach dauernd gebildet werden.

Die verwendeten Lösungen der Ammoniumsalze sind durch Neutralisation der Säuren mit NH_3 dargestellt, bzw. durch Vertreiben eines ev. Ammoniaküberschusses durch Kochen oder auch im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure gewonnen. Bei der bekannten Reaktionsfähigkeit der Carbonylsäuren ist es nun nicht ausgeschlossen, daß etwa nach Art der Reaktion von Erlenmeyer und de Jong eine Bildung von Derivaten der Aminosäuren in geringerem Umfange stattfindet. Freilich sollte man von diesen Produkten, die an der Aminogruppe substituiert sind, nach

[1]) Wenn E. Abderhalden und H. Schmidt (Zeitschr. f. physiol. Chem. 72, 37, 1911) einen negativen Ausfall der Probe mit HCl-Glucosamin anführen, so ist zu vermuten, daß sie nur das Chlorhydrat in großer Verdünnung geprüft haben.

den bisherigen Anschauungen keinen positiven Ausfall erwarten. Allerdings kann die Reaktion wohl auch komplizierter verlaufen.

6. Eine Reihe organischer Säuren, Dicarbonylverbindungen und Halogenaldehyde, die vorher mit Ammoniak im Überschuß versetzt und durch Kochen davon befreit sind, d. h. glykolsaures, milchsaures, glycerinsaures, äpfelsaures, citronensaures Ammoniak, sowie ebenso behandeltes Bromalhydrat, Phenylglyoxal und Alloxan gaben eine positive Reaktion. Ob es sich hierbei um eine partielle Aminierung dieser Substanzen handelt, muß dahingestellt bleiben.

Auf alle Fälle kann die Anschauung nicht aufrecht erhalten werden, daß für einen positiven Ausfall der Triketohydrindenreaktion eine freie Aminogruppe und eine freie Carboxylgruppe in Nachbarstellung vorhanden sein müssen. Amine, Aminoaldehyde und Taurin enthalten keine Carboxylgruppe[1]).

Interesse beanspruchen vor allem die Amine; die tabellarische Übersicht lehrt, daß namentlich solche in Betracht kommen, die bei der Fäulnis von Eiweiß und Aminosäuren entstehen.

Läßt man Fleisch (50 g) nach den Angaben von Salkowski[2]) über Nacht im Brutschrank faulen und destilliert am nächsten Morgen, so gibt das mit Essigsäure neutralisierte Destillat eine deutliche Triketohydrindenreaktion, obgleich doch von den Fäulnisbasen nur wenige flüchtig sind.

Bei einem entsprechenden Fäulnisversuch mit 5 g vorher gekochtem Carcinomgewebe (solide Lebermetastasen vom Menschen), das mit einer kleinen Menge faulem Fleisch geimpft war, konnte nach 6 Stunden im Destillat eine positive Triketohydrindenreaktion festgestellt werden.

Als positiver Ausfall ist stets Blaufärbung angenommen. Wenn die Nuance anders war, ist solches in der Übersicht stets vermerkt. Übrigens haben E. Abderhalden und H. Schmidt (l. c.) abweichende rote und violette Farbentöne beim Histidin, beim Sarkosin, bei verschiedenen Peptonen und Albumosen,

---

[1]) Die bisher nicht geprüften Aminosäuren Serin (β-Amino-α-oxypropionsäure), sowie δ-Amino-n-valeriansäure, deren Carboxyl- und Aminogruppe nicht benachbart sind, geben die Probe gleichfalls.

[2]) E. Salkowski, Praktikum S. 223.

sowie bei den Aminosäuren in schwach saurer Lösung beobachtet.

Es hat sich nun ferner gezeigt, daß bei einem Gemisch von typisch und atypisch reagierenden Substanzen eine Irreführung insofern eintreten kann, als manchmal die violette Nuance kaum zur Geltung gelangt und die Bläuung vertieft; man wird dann einen weit stärker positiven Ausfall annehmen, als er der tatsächlich vorhandenen positiv reagierenden Substanzenmenge entspricht.

Negativ oder in einer gar nicht zu verwechselnden Nuance fiel die Reaktion mit folgenden Körpern aus:

Indol, Chinolin, Isochinolin, Cinchonin, Brucin, Chinidin, Morphin, Senföl (rötlich), Allylamin (gelbrot), Diäthylamin (rot), Piperidin, Cyanessigsäure, Thiosinamin, Lecithin, Betain, Ferrocyankalium, Cholin, Camphylamin (rötlich), Formamid, Amygdalin, Diacetonamin, Adenin, Xanthin, Kreatin, Kreatinin, β-Aminocrotonsäureester, Trimethylsulfinjodid, Anilin, Chondroitinschwefelsäure, Amidosulfonsäure ($NH_2 . SO_3H$), Barbitursäure, Hydrazin, Phenylhydrazin.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen geht hervor, daß man keineswegs die Diagnose von Aminosäuren einfach auf einen positiven Ausfall der Reaktion mit Triketohydrindenhydrat gründen kann. Es bedarf dazu peinlicher Sorgfalt, da Beimengungen der genannten Substanzen zu Fehlresultaten führen können.

V.

Bemerkungen über den Zucker in Pentosurieharn.

Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Kollegen Ernst Zerner kam ich vor einiger Zeit in den Besitz eines Sonderabdruckes der Mitteilung von E. Zerner und E. Waltuch[1]) über Pentosurie.

Auf verschiedene Stellen dieser Publikation habe ich vielleicht später Gelegenheit einzugehen, da ich hoffe, im Laufe dieses Winters bei der Untersuchung eines neuen Falles von Pentosurie mitzuwirken. Nur auf zwei Punkte möchte ich schon heute hinweisen.

1. Die Verfasser geben an, daß nur in dem früher von mir eingehend untersuchten Falle d,l-Arabinose gefunden sei,

---

[1]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. Juni 1913.

während sie weder mit dem von mir benutzten Diphenylhydrazin noch mit dem von J. v. Braun[1]) empfohlenen Diphenylmethandimethyldihydrazin ein schwerlösliches Hydrazon abscheiden konnten. Dies ist jedoch kürzlich H. Aron[2]) in Breslau gelungen, der mittels der v. Braunschen Methode ebenfalls zu inaktiver Arabinose gelangte.

2. Zerner und Waltuch sind nun der Meinung, daß der betr. Fünfkohlenstoffzucker in ihren Fällen d-Xylose oder eine Pentose dieser Gruppe sei. Sie empfehlen ein sinnreiches Verfahren zum Nachweis von d-Xylosazon, darauf beruhend, daß beim Vermischen dieser Verbindung mit gewöhnlichem l-Xylosazon die Racemform entsteht; letztere zeigt einen viel höheren Schmelzpunkt (210 bis 215°) [E. Fischer] als die aktiven Formen, die gegen 160° schmelzen.

Diese einfache Mischprobe habe ich mit zwei Harnpentosazonen verschiedener Herkunft angestellt.

α) Das eine entstammte dem von mir untersuchten Falle, von dem ich so viel reine d,l-Arabinose gewann, daß noch jetzt einige Gramm krystallisierter Zucker in meinem Besitz sind, nachdem ich an verschiedene Interessenten wiederholt Proben abgegeben habe. Durch die Mischprobe stieg der Schmelzpunkt nicht, sondern sank auf 155 bis 157°.

β) Das zweite Osazon rührt von einem anderen, nicht eingehender geprüften Falle her. Die Mischprobe gab eine Depression des Schmelzpunktes von 163° auf 153 bis 155°.

Demnach liegt auch im Falle *β*) sicher kein Zucker der d-Xylosegruppe vor.

Sollten Zerner und Waltuch die Pentose ihrer beiden interessanten Fälle mit Sicherheit als d-Xylose charakterisieren, so läge hier gleich eine besonders beachtenswerte Duplizität zweier neuer Pentosuriefälle vor, in denen ein ganz anderer Zucker auftritt, als früher festgestellt worden ist.

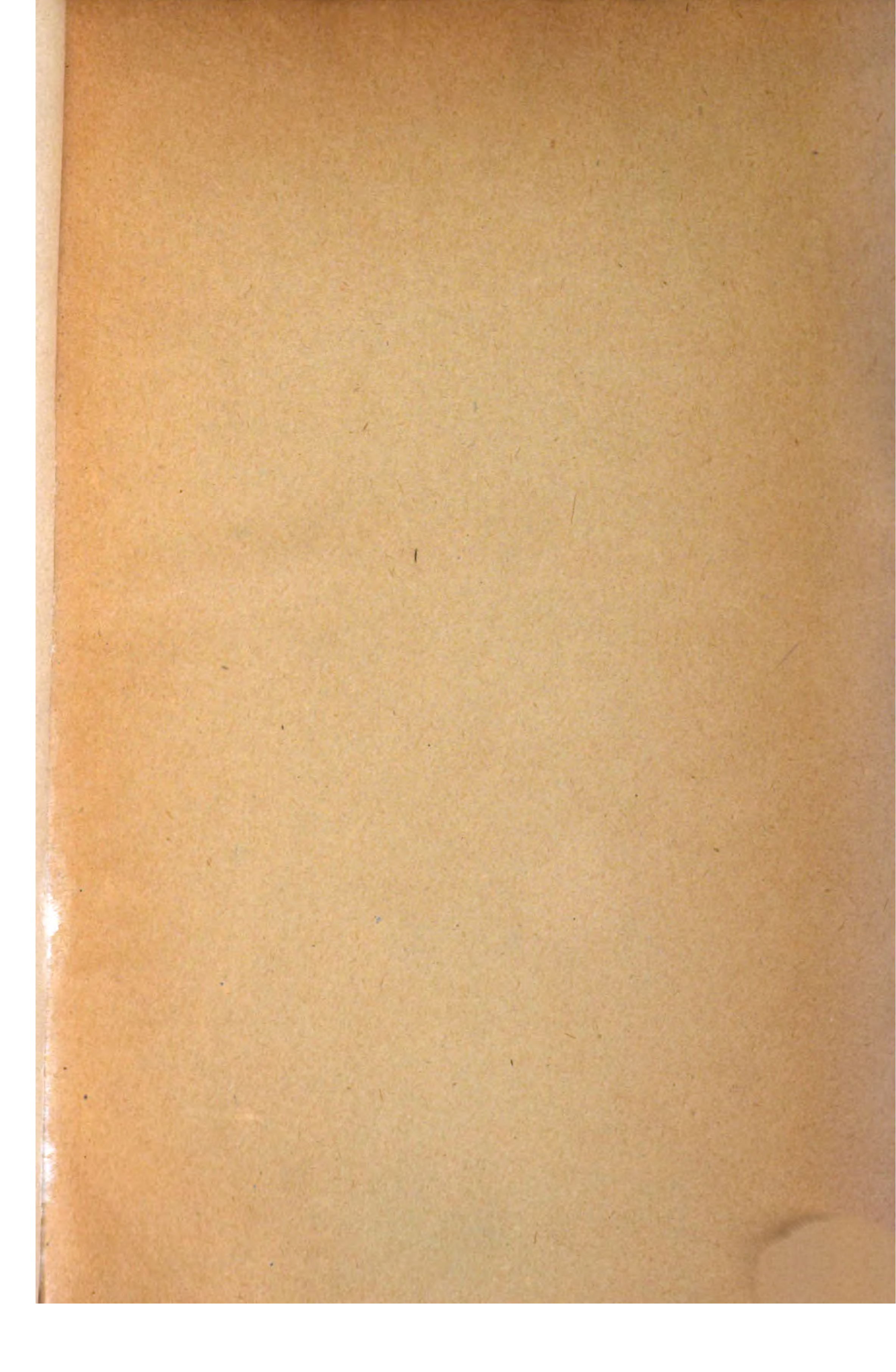
[1]) J. v. Braun, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **43**, 1495, 1910.

[2]) H. Aron, Monatsschr. f. Kinderheilk. **8**, 1913.

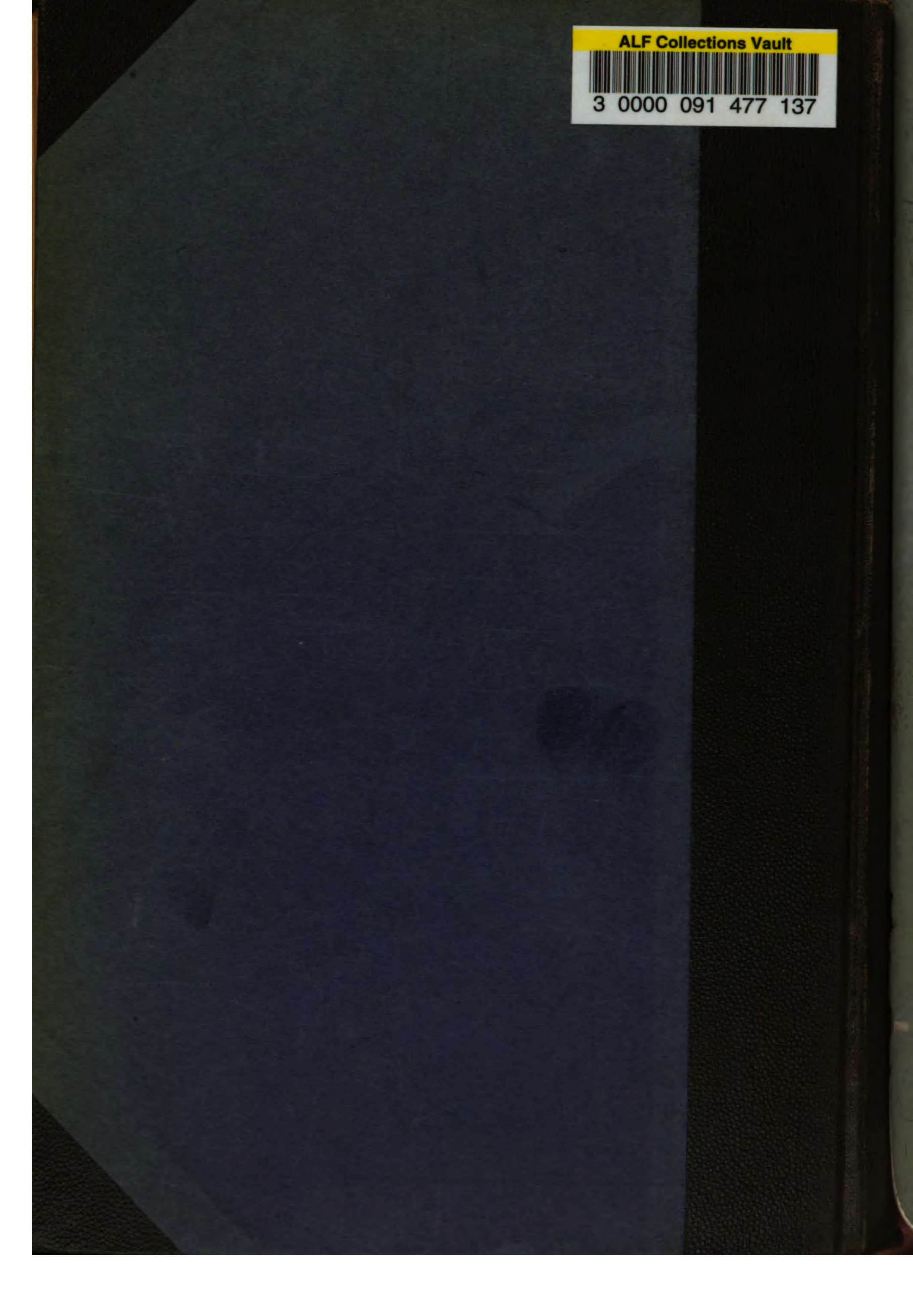
Autorenverzeichnis.

Bang, Ivar. Über die Zuckerbildung der Froschleber. S. 153.
— Über die Chlorbestimmung im Blute. S. 158.
— Antikritik gegen Hattas Kritik der Zuckerbestimmungsmethode von Bang. S. 159.
Baß, R., und E. Klausner. Über Veränderungen des Serums nach Chloroform- bzw. Äthereinwirkung. S. 105.
Battelli, F., und L. Stern. Untersuchungen über die Atmung zerriebener Insekten. S. 35.
— — Intensität des respiratorischen Gaswechsels der Insekten. S. 50.
— — Die Tyrosinoxydase, die Polyphenoloxydase und die Oxydone bei den Insekten. S. 59.
Beumer, H., siehe Bürger und Beumer.
Bürger, M., und H. Beumer. Über die Phosphatide der Erythrocytenstromata bei Hammel und Menschen. S. 446.
Dobrowolskaja, N. A. Zur Lehre der Respirationsvorgänge im Darm. S. 267.
Erlenmeyer, Ernst. Nachweis und Bestimmung von Blei in organischem Material nebst einigen Bemerkungen über die Trennung von $PbSO_4$ und $CaSO_4$ durch Ammonacetat. S. 330.
Fagiuoli, Antonio. Wirkung des kolloiden Schwefels auf die Autolyse. S. 291.
Foreman, Frederick William. Die Prolinfraktion bei der Hydrolyse des Caseins. S. 1.
Glagolew, P. Über Plasteinbildung. II. S. 195.
Goy, S., siehe Stutzer und Goy.
Grafe, V., und V. Vouk. Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. (Zichorie). III. S. 249.
Gramenizky, M. J. Über den Einfluß von Säuren und Alkalien auf das im Stadium der Regeneration befindliche diastatische Ferment. S. 78.
György, Paul, siehe Rona und György.
Henriques, V. Über die Verteilung des Blutes vom linken Herzen zwischen dem Herzen und dem übrigen Organismus. S. 230.
Herzfeld, E. Über Indolbildung bei der alkalischen Hydrolyse der Eiweißkörper. S. 82.
— Über eine quantitative Tryptophanbestimmungsmethode. S. 258.
Izar, G., und C. Patanè. Über die physiologische Wirkung des kolloiden Kohlenstoffs. S. 306.
Jacobsen, Aage Th. B. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei normalen, zuckerkranken und graviden Personen. S. 471.
Karczag, L. Über kolloidale Metallchloride und Metallsulfate. S. 117.
Klausner, E., siehe Baß und Klausner.
Kopaczewski, W. Über die Dialysierbarkeit und Eigenschaften der Maltase. S. 95.
Krauß, Fritzi. Über die Reaktion zwischen Antikörper und gelöstem Antigen. S. 457.
Lichtwitz, L. Bemerkungen zu der Mitteilung von J. Meisenheimer, St. Gambarjan und L. Semper „Anreicherung des Invertasegehalts lebender Hefe“. S. 160.
Lindner, P. Bemerkungen zu A. J. Kluyvers Mitteilung über

die Assimilierbarkeit der Maltose durch Hefen. S. 163.
Loeb, Jacques, und Hardolph Wasteneys. Narkose und Sauerstoffverbrauch. S. 295.
Loewy, A., und S. Rosenberg. Über die normale Höhe des Blutzuckergehalts bei Kaninchen und Hunden. S. 114.
López-Suárez, J. Zur Kenntnis des Magenschleims. S. 167.
Masslow, M. Über die biologische Bedeutung des Phosphors für den wachsenden Organismus. S. 174.
Murschhauser, Hans, siehe Schloßmann und Murschhauser.
Neuberg, Carl. Kleinere Mitteilungen verschiedenen Inhalts. S. 495.
Parnas, J. Über die gesättigte Fettsäure des Kephalins. S. 17.
Patané, C., siehe Izar und Patané.
Petow, Hellmuth, siehe Pincussohn und Petow.
Petry, Eugen. Zur Mechanik der biologischen Wirkung der Röntgenstrahlen. S. 340.
Pincussohn, Ludwig, und Hellmuth Petow. Untersuchungen über die fermentativen Eigenschaften des Blutes. S. 319.
Polimanti, Osw. Über den Fettgehalt und die biologische Bedeutung desselben für die Fische und ihren Aufenthaltsort. S. 439.
Rona, Peter, und Paul György. Beitrag zur Frage der Ionenverteilung im Blutserum. S. 416.
Rosenberg, S., siehe Loewy und Rosenberg.
Schloßmann, Arthur, und Hans Murschhauser. Der Stoffwechsel des Säuglings im Hunger. S. 355.
Spät, Wilhelm. Über Komplementwirkung bei Komplementbindungsreaktionen. S. 21.
Spiro, K. Die Fällung von Kolloiden. III. S. 11.
Stern, L., siehe Battelli und Stern.
Stutzer, A., und S. Goy. Der Einfluß der Beschattung des Tabaks auf verschiedene Bestandteile der Blätter. S. 220.
Thar, H. Erwiderung zu der Mitteilung von Prof. E. Salkowski „Über die Fällung der Purinbasen durch Zinksalze aus Fleischextrakt und Harn“. S. 353.
Vouk, V., siehe Grafe und Vouk.
Wasteneys, Hardolph, siehe Loeb und Wasteneys.
Wiener, Hugo. Studien über Zelleiweiß mit Hilfe der Formoladdition. S. 122.
Wierzchowski, Zenon. Studien über die Einwirkung von Maltase auf Stärke. S. 209.






ALF Collections Vault
3 0000 091 477 137